

Aus der Klinik für Innere Medizin
Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie/Immunologie
Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Neubauer
des Fachbereiches Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit der Klinik für Innere Medizin III
Fachbereich Hämatologie und Onkologie
St. Marienkrankenhaus/Siegen
Chefarzt: Prof. Dr. med. W. Gassmann

**Auswertung von Ringversuchen zur zytologischen
Knochenmark-Diagnostik der Gesellschaft zur Förderung der
Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V.
(INSTAND)**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin
der Phillips-Universität Marburg



vorgelegt von Markus Rotermund
aus Siegen

Marburg 2016

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:
18.05.2016

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Herr Prof. Dr. med. Helmut Schäfer

Referent: Herr Prof. Dr. med. Andreas Neubauer

1.Korreferent: Herr PD Dr. med. Hassan Jomaa

2.Korreferent: Herr Prof. Dr. med. Gregor Bein

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung	7
1.1 Geschichte der Hämatologie	7
1.2 Geschichte der Mikroskopie	8
1.3 Zukunft der Mikroskopie	9
1.4 Hämatologische Klassifikationen	9
1.5 Qualitätssicherung.....	10
2. Material und Methoden	11
2.1 Methodik.....	11
2.2 Zielsetzung.....	11
2.3 Materialien.....	12
2.4 Auswahl der Präparate:	13
3. Ergebnisse	13
3.1 Summarische Ergebnisse / Statistik	13
3.2 Perspektive 1: Wie häufig wurde eine gegebene Diagnose verfehlt?.....	21
3.2.1 Myelodysplastische Syndrome	23
3.2.2 Akute myeloische Leukämie	27
3.2.3 Megaloblastäre Anämie	29
3.2.4 Non-Hodgkin-Lymphome.....	30
3.2.5 Myeloproliferative Neoplasien (MPN)	35
3.2.6 Knochenmarkkarzinose	36
3.2.7 Pure red cell aplasia (PRCA).....	37
3.2.8 Hämolytische Anämie.....	38
3.2.9 Idiopathische Thrombozytopenie (ITP)	39
3.2.10 Normalbefund und monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz	40
3.2.11 Remissionsstatus bei akuter myeloischer und lymphatischer Leukämie	42
3.3 Analyse der Ringversuchs-Ergebnisse aus der Perspektive der von den Ringversuchsteilnehmern gestellten Diagnosen	45
4. Diskussion.....	51
4.1 Einführung in das Thema/ Fragestellung	52
4.2 Fehleranalyse für die einzelnen Erkrankungen:.....	54
4.3 Analyse der Fehlerraten	67
4.4 Diagnostisches Vorgehen in Studien	68

4.5 Qualitätssicherung.....	70
4.6 Analyse aus der Perspektive der Diagnose der Ringversuchsteilnehmer.....	71
4.7 Resümee und Ausblick.....	71
5. Publikationsverzeichnis	73
6. Anhang	85
6.1 Abkürzungsverzeichnis:.....	85
6.2 Erklärung zur Dissertation	87
6.3 Beispiel für einen Protokollbogen des Ringversuches 219 von 2001	87
6.4 PubMed Recherche.....	93
6.5 Hämatologische Klassifikationen:	94
7. Zusammenfassung	97
8. Summary	98
9. Verzeichnis der akademischen Lehrer	99
10. Danksagungen	99
11. Tabellarischer Lebenslauf	100

Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 1: Zusammengesetztes Mikroskop R.Hooke (1665) und Wilsons Schraubmikroskop (1760)	8
Abbildung 2: Histogramm 2001	18
Abbildung 3: Histogramm 2002	18
Abbildung 4: Histogramm 2003	18
Abbildung 5: Histogramm 2004	18
Abbildung 6: Histogramm 2005	18
Abbildung 7: Boxplots	19
Abbildung 8: Quote richtiger Teilnehmer-Diagnosen MDS	47
Abbildung 9: Quote richtiger Teilnehmer-Diagnosen	49
Abbildung 10: Quote/Verteilung der richtigen Teilnehmer-Diagnosen	49
Abbildung 11: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Knochenmarkübersicht.....	55
Abbildung 12: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Blasteninfiltration.....	56
Abbildung 13: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Typischer Megakaryozyt	56
Abbildung 14: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Megakaryozyt mit unsegmentiertem Kern	57

Abbildung 15: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Unklare Dysplasie	57
Abbildung 16: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3	58
Abbildung 17: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3	58
Abbildung 18: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3: Blastäre Natur der Zellen	59
Abbildung 19: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3: Granulierten atypischen Promyelozyten	59
Abbildung 20: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3: Fagott-Zellen.....	59
Abbildung 21: Akute myeloische Leukämie vom Typ M4 Eo: Komplette Remission	60
Abbildung 22: Akute myeloische Leukämie vom Typ M4 Eo: Komplette Remission	60
Abbildung 23: Akute myeloische Leukämie vom Typ M4 Eo: V.a. Rezidiv	61
Abbildung 24: Megaloblastäre Anämie.....	61
Abbildung 25: Megaloblastäre Anämie: Riesen-Metamyelozyten-Stabkernige	62
Abbildung 26: Megaloblastäre Anämie: Erythroblasten	62
Abbildung 27: Haarzell-Leukämie	63
Abbildung 28: Hämolytische Anämie.....	65
Abbildung 29: Hämolytische Anämie: Knochenmarkübersicht.....	65
Abbildung 30: Hämolytische Anämie: keine Dysplasiezeichen	65
Abbildung 31: Hämolytische Anämie: Fehldiagnose Myelodysplasie	66
Abbildung 32: Organisationsstruktur des Ringversuches	86

Tabellenverzeichnis:

Tabelle 1: Nach Diagnosen unterteilte Schwierigkeitsgrade zum Ringversuch.....	14
Tabelle 2: Schweregrad 2 u. 3 in Beziehung zu den jeweiligen Prozentsätzen	16
Tabelle 3: Statistische Parameter.....	17
Tabelle 4: Friedmann-Test über 5 Jahre	20
Tabelle 5: Friedmann-Test über 3 Jahre	20
Tabelle 6: Modelldimension.....	20
Tabelle 7: Informationskriterien	20
Tabelle 8: Tests auf feste Effekte, Typ III	21
Tabelle 9: Fehlerquote in Prozent nach zytomorphologischer Diagnose	22
Tabelle 10: MDS Auswertung aller Fälle	23

Tabelle 11: Auswertung Myelodysplasie Typ RAEB	24
Tabelle 12: Auswertung Myelodysplasie Typ 5q-Syndrom	25
Tabelle 13: Auswertung Myelodysplasie Typ RARS.....	26
Tabelle 14: Auswertung Myelodysplasie Typ RCMD:.....	27
Tabelle 15: Auswertung der akuten myeloischen Leukämien	28
Tabelle 16: Auswertung der megaloblastären Anämie	30
Tabelle 17: Auswertung der Marginalzonen-Lymphome.....	31
Tabelle 18: Auswertung der chronisch lymphatischen Leukämie	32
Tabelle 19: Auswertung der Haarzell-Leukämie	33
Tabelle 20: Auswertung des Plasmozytoms.....	34
Tabelle 21: Auswertung der myeloproliferativen Neoplasien	35
Tabelle 22: Auswertung der essentiellen Thrombozythaemie.....	36
Tabelle 23: Auswertungen der Knochenmarkkarzinose.....	37
Tabelle 24: Auswertung der PRCA.....	38
Tabelle 25: Auswertung der hämolytischen Anämie	39
Tabelle 26: Auswertung der Immunthrombozytopenie (ITP).....	40
Tabelle 27: Auswertung der Normalbefunde	41
Tabelle 28: Auswertung der monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz.....	42
Tabelle 29: Auswertung zur Frage der Vollremission bei AML	43
Tabelle 30: Auswertung des Remissionsstatus bei AML M4 Eo	43
Tabelle 31: Auswertung bei AML ohne Remission	44
Tabelle 32: Auswertung des Remissionsstatus bei ALL	45
Tabelle 33: Quote der richtigen Diagnosestellung bei MDS und MPN	46
Tabelle 34: Quote richtigen Teilnehmer-Diagnosen bei ALL und AML	47
Tabelle 35: Quote der richtigen Teilnehmer-Diagnosen bei B-Zell-Lymphomen.....	49
Tabelle 36: Quote der richtigen Teilnehmer-Diagnosen bei Knochenmarkkarzinose, verschiedenen Anämien, idiopathischer Thrombozytopenie und Normalbefunden.....	50
Tabelle 37: Schwierigkeitsgrade anhand der Ergebnisdaten aus den Ringversuchen	54
Tabelle 38: PubMed-Tabelle Recherche von 22.10.14 bis 05.01.15.....	93
Tabelle 39: FAB-Klassifizierung der akuten myeloischen Leukämie.....	94
Tabelle 40: IPSS-R-Score	96

1. Einleitung

1.1 Geschichte der Hämatologie

Der Begriff der Hämatologie wurde erstmalig von Thomas Schwenke (*1694 -1768) 1743 in seiner Schrift „*Haematologia, sive Sanquinis Historia, Experimentis passim superstructa ect. Hagae Comitum*“ erwähnt.³⁶

Ernst Neumann (*30.1.1834 - 6.3.1918) beschrieb 1868 das Knochenmark als Ort der Blutbildung.⁸⁰ Weiterhin beschrieb er die akute myeloische Leukämie. Hieraus entwickelte sich 1868 als Spezialfach der Pathologie die Hämatologie (Wintrobe und Tavassoli).^{96, 113}

Auf der Basis seiner Beobachtungen postulierte E. Neumann, dass das Knochenmark ein blutbildendes Organ mit einer gemeinsamen Stammzelle sein muss.⁷⁹ 1868 führten Studien über Regenerationsvorgänge am Zahn- und Knochengewebe, elektrophysiologische Untersuchungen an der Erythrozytenmembran und über den Ikterus neonatorum zur Erstbeschreibung der Ursprungszelle der roten Blutkörperchen. 1869 folgte die erste Beschreibung der Knochenmarksmorphologie.¹⁰⁸ Diese Untersuchungen erfolgten ausschließlich mit dem von ihm eingeführten Nativpräparat (mikroskopische Untersuchung ohne chemische Färbung).⁸⁰

Ernst Neumann beschrieb anhand oben genannten Untersuchungstechniken 1869/71 die „knochenmarkbedingte Leukämie“, die er „myelogene Leukämie“ nannte.

Paul Ehrlich hatte 1878 in seiner Dissertation „Beiträge zur Theorie und Praxis der histologischen Färbung“ sich mit Farbstoffen und der Färbung von Geweben für die mikroskopische Diagnostik beschäftigt, so dass die mikroskopische Differenzierung des Blutbildes möglich wurde. Er beschrieb erste pathologische Befunde wie verschiedene Formen der Anämien, Leukämien und Aplasien im Blut.⁶¹

Beide, Ernst Neumann und Paul Ehrlich (1854 bis 1915), gelten als Begründer der Hämatologie. Im hohen Alter fasste Paul Ehrlich seine zahlreichen Arbeiten in einem Werk mit dem Titel „Blut und Pigmente“ (1917) zusammen.²⁸

Bis in die 70er Jahre des 20. Jahrhunderts wurden hämatologische Neoplasien sehr individuell benannt und unsystematisch klassifiziert. 1976 entstand dann auf Basis der Morphologie und Zytologie die FAB-Klassifikation der akuten myeloischen Leukämien,⁷ die 1985 nochmals modifiziert wurde.⁸ Im Jahr 2000 mündet diese unter Zusammenarbeit mit Mitgliedern der FAB-Gruppe in die weltweit akzeptierte WHO-Klassifikation, die hämatologische und lymphatische Neoplasien auf Basis morphologischer, immunologischer und zytogenetischer/ molekularbiologischer Eigenschaften einteilt.⁹ Zuletzt wurde die WHO-Klassifikation 2008 aktualisiert.¹⁰⁵ Die 4. Version der WHO-Klassifikation beinhaltet die molekulare Pathogenese, die Identifikation von neuen diagnostischen und prognostischen Markern und führt zu Veränderungen im klinischen Management und diagnostischen Algorithmen dieser Erkrankungen wie z.B. die Identifizierung der JAK 2-Mutationen bei den myeloproliferativen Neoplasien.¹⁰⁴

1.2 Geschichte der Mikroskopie

Die ersten sinnvollen Konstruktionen zur Vergrößerung von Objekten, die unterhalb des Auflösungsvermögens des menschlichen Auges liegen, tauchen um 1600 auf. Dem „Hausierer“ Zacharias Janssen (1588-1631) wird, nicht unbestritten, als einer der Ersten eine Konstruktion mit zwei Linsen zur Vergrößerung zugeschrieben. Niederländische Optiker entwickelten Apparate mit verschiedenen Glaslinsen. Insbesondere Robert Hooke und Marcello Malpighi (1628-1694) und Antoni Leeuwenhoek (1632-1723)⁵⁰ schreiben erste wissenschaftliche Abhandlungen („*Micrographia*“ 1665, R. Hooke).⁴⁹ Abbildung 1 zeigt das „zusammengesetzte Mikroskop“ mit dem R. Hooke die Arbeiten zu „*Micrographia*“ durchführte und ein einlinsiges Mikroskop, „*Wilsons Schraubrohrmikroskop*“.⁶⁰

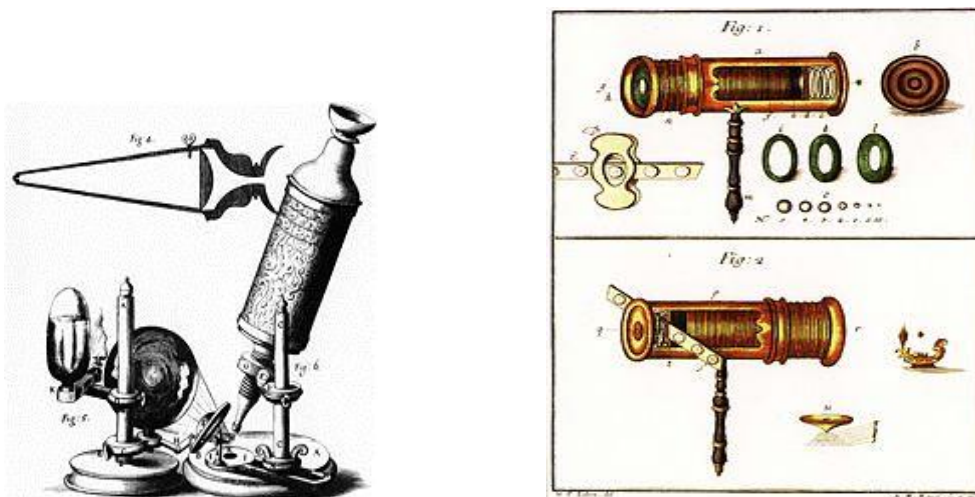


Abbildung 1: Zusammengesetztes Mikroskop R.Hooke (1665) und Wilsons Schraubmikroskop (1760)

Marcello Malpighi entdeckte via Mikroskop die membranösen Alveolen am Ende der Bronchialverästelungen von Fröschen („*de pulmonibus*“, 1661). Beschreibungen der Tastorgane der Haut, der Gallenblase, der Nieren aber auch des Gehirns und Rückenmarks folgten. Erste Erythrocyten werden 1666 in „*De polypo cordis*“ von ihm beschrieben. Antoni von Leeuwenhoek entwickelte Mikroskope 1671 bis zu einer 266 fachen Vergrößerung und einem Auflösungsvermögen von 1,35.¹⁰⁷ Die technische Entwicklung führte insbesondere im 17. Jahrhundert und weiter in den folgenden zwei Jahrhunderten zu deutlichen Fortschritten. 1871/72 wurden auf Basis der Erkenntnisse von Ernst Abbe (1840-1905), Weggefährte von Carl Zeiss (1816-1888), Otto Schott (1851-1935) und August Köhler (1866-1948), die wissenschaftlichen Grundlagen für die erste berechnete Optik und somit das heutige Lichtmikroskop, geschaffen.⁵⁵ Entscheidend waren neben der Qualität der Gläser (Schott) und dem Beleuchtungsapparat (August Köhler 1866-1948) die grundlegenden physikalischen Theorien der Auflösungsgrenze „Abbe-Limit“ durch Ernst Abbe um 1873.¹

1.3 Zukunft der Mikroskopie

Um die Auflösung der konventionellen Lichtmikroskopie zu verbessern, kombiniert man Videokameras mit digitaler Bildverarbeitung. Die Verbesserung der Auflösung erfolgt z.B. über die Reduktion der Wellenlänge der Beleuchtung (UV-Licht) oder über eine geöffnete Aperturblende (maximale Auflösung aber wenig Kontrast). Denkbar sind UV-Mikroskopie, Video Enhanced Contrast oder Video Intensified Fluorescence, wobei sich nicht alle für die Hämatologie eignen.^{107,110} Die meisten Fortschritte wird es voraussichtlich in der digitalen Datenverarbeitung geben.

1.4 Hämatologische Klassifikationen

Wichtiger Bestandteil zytomorphologischer Diagnostik und therapeutischer Entscheidungen, sind die Klassifikationssysteme hämatologischer und lymphatischer Neoplasien. Grundlage bilden von der WHO festgelegte Definitionen („WHO Classification: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues“). Die WHO-Klassifikation basiert auf den zytologischen, histologischen, immunologischen und genetischen Merkmalen einer definierten Erkrankung und erfolgt in Übereinstimmung internationaler Experten- und Studiengruppen. Sie stellt zum Zeitpunkt der Veröffentlichung den letzten Wissenstand bezüglich der jeweiligen Erkrankung dar.¹¹⁵ Hier werden abhängig von Laborparametern, Verlauf dieser Laborwerte, Molekularbiologie und Zytogenetik als auch Immunphänotypisierung Erkrankungen definiert und therapeutische Entscheidungen getroffen.⁴⁵ Einzelne Erkrankungen werden über krankheitspezifische Eigenschaften unter Zuhilfenahme von Zytomorphologie und Zytogenetik jeweils gesondert klassifiziert (z.B. AML und FAB-Klassifikation s. Anhang Tab.39) oder mittels eines Risiko-Score prognostisch eingeschätzt wie z.B. im IPSS-R-Score (Revised International Prognosis Scoring System) beim myelodysplastischen Syndrom (s. Anhang Tab.40).⁴³

Myelodysplastische Syndrome (MDS) werden in erster Linie durch zytomorphologische Diagnostik des Knochenmarks und peripherer Blutaussstriche diagnostiziert. Hierbei stehen der Grad und der prozentuale Anteil der Dysplasien, der Prozentsatz der blastären Zellen und das Ergebnis der Zytogenetik im Vordergrund und bilden die Basis der eigentlichen Diagnose. Der IPSS-R erlaubt eine Differenzierung in Gruppen mit Niedrigrisiko- oder Hochrisikopatienten und somit die Differenzierung von fünf Gruppen (very good, good, intermediate, poor, very poor). Diese unterscheiden sich im medianen Überleben und dem Risiko eine akute myeloische Leukämie zu entwickeln.

1.5 Qualitätssicherung

Definition: „Qualität der Gesundheitsversorgung ist das Ausmaß, in dem die tatsächliche Versorgung mit vorausgesetzten Kriterien für eine gute Versorgung übereinstimmt. (1966, Donabedian).¹²

Ärzte, die labormedizinische Untersuchungen durchführen, müssen für festgelegte Laborleistungen z.T. quartalsweise einen Nachweis über ihre erfolgreiche Teilnahme an Ringversuchen vorlegen (z.B. KV Bayern). Ziel dabei ist, die Qualität laborspezifischer Untersuchungen zu sichern.¹⁸ Unterschieden werden u.a. Routine- und Referenzmethoden. Routinemethode meint eine Methode mit einer für die Anwendung hinreichende Zuverlässigkeit und Praktikabilität. Eine Referenzmethode beinhaltet ein sorgfältig geprüftes Messverfahren zur Messung einer oder mehrerer Messgrößen, bei dem alle Bedingungen und Prozeduren exakt beschrieben sind, und das auf Grund seiner Richtigkeit und Präzision zur Überprüfung der Genauigkeit anderer Methoden zur Bestimmung derselben Messgröße geeignet ist.¹⁰⁰

Dabei sind die Ringversuche für quantitative Untersuchungen vergleichsweise unproblematisch. Im speziellen Teil der Richtlinie der BÄK wird die Vorgehensweise für solche quantitativen Untersuchungen unter den Kapiteln B1 und E1 weiter festgelegt.²³

Die Knochenmarksdiagnostik ist eine im Wesentlichen qualitative Untersuchungsmethode. Die speziellen Anforderungen an Ringversuche von solchen qualitativen labormedizinischen Untersuchungen werden im Kapitel B2,B3 und E2 geregelt.^{20, 21, 22} Hier werden u.a. die Pflichten von Referenzinstitutionen festgelegt, da von diesen ein erheblicher Impuls ausgeht. Referenzinstitutionen sind maßgeblich an allen wesentlichen Entscheidungen innerhalb dieser Ringversuche beteiligt.

Das Vorgehen und der Ablauf innerhalb des durch INSTAND durchgeführten Ringversuches entspricht diesen Vorgaben (s. Methodik).

Die Rechtsgrundlage hierzu bilden:

1. der Bundesmantelvertrag-Ärzte (§ 25 Abs. 7)⁵⁶
2. die Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK)-Stand August 2014¹⁹ und
3. der §4a Medizinprodukte-Betreiberverordnung (MPBetreibV)⁷⁵

Das Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium (INSTAND: Professor Dr. med. Michael Spannagel) führt Ringversuche zur morphologischen Blut- und Knochenmark-Diagnostik durch. Die Ergebnis-Qualität wird in diesen Ringversuchen kontrolliert. Zum Einsatz kommen dabei zwei unterschiedlich Ringversuchstypen. Typ 2 ist der hier ausgewertete:

Typ 1: Breit angelegte Ringversuche mit jeweils zwei Fällen versandt an bis zu 140 Teilnehmer mit tabellarischer Beurteilung

Typ 2: Individual-Ringversuche mit zehn oder fünf Fällen für besonders interessierte Einrichtungen mit individueller Beurteilung der Befunde der Ringversuchsteilnehmer und Hilfestellung bei nicht korrekter Beurteilung.³⁴

2. Material und Methoden

2.1 Methodik

Grundsätzlich gilt, dass einige Blutkrankheiten und Krankheiten des lymphatischen Systems durch mikroskopische Analyse von Blutaussstrichen diagnostiziert werden können. Bei vielen anderen ist es erforderlich, das Knochenmark, den Ort der Produktion von Blut- und lymphatischen Zellen, zu untersuchen. Dies geschieht auf zweierlei Art:

- Einerseits werden intakte Knochenmarkszyylinder bioptisch gewonnen und histologisch untersucht. Dabei kann vor allem die Architektur des Knochenmarks beurteilt werden, die Einzelzell-Erkennung und die Analyse der Binnenstruktur der Zellen sind jedoch schwieriger.
- Für die zytologische Untersuchung wird Knochenmark aspiriert und auf Objektträgern ausgestrichen. Die natürliche Struktur des Knochenmarks wird dabei zerstört, die einzelnen Zellen und ihre Binnenstruktur können auf diese Weise jedoch besonders gut beurteilt werden.

Gegenstand dieser Untersuchung ist die zytologische Knochenmark-Diagnostik, speziell die Auswertung von Knochenmark-Ringversuchen, die von „INSTAND-Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V.“ versandt wurden. Dabei wurden Knochenmarksausstriche von zunächst zehn später fünf Fällen an die Ringversuchsteilnehmer versandt.

Die auf Einzelzell-Erkennung basierende mikroskopische („zytologische“) Knochenmarkdiagnostik wird von Mitgliedern unterschiedlicher medizinischer Fachgruppen durchgeführt, speziell von Fachärzten für Hämatologie, für Pathologie, für Innere Medizin, für Pädiatrie und für Labormedizin. Spezielle Qualifikationen werden nur für die Abrechnung der diagnostischen Leistungen im Bereich der gesetzlichen Krankenkassen gefordert, nicht für die Durchführung z.B. im stationären Sektor. Ringversuche sind allgemein Methoden der externen Qualitätssicherung für Mess- oder Untersuchungsverfahren. Grundsätzlich werden identische Proben mit identischen Verfahren oder mit unterschiedlichen Verfahren überprüft. Der Vergleich erlaubt Aussagen über Messgenauigkeit und/oder Messqualität.

2.2 Zielsetzung

Ziele der Untersuchung war es:

- Festzustellen, bei welchen Erkrankungen besondere diagnostische Schwierigkeiten bestehen
- Schwierigkeiten zu identifizieren, die insbesondere auch erfahrene Kolleginnen und Kollegen bei der zytologischen Knochenmarks-Diagnostik haben.
- Festzustellen, welche Fortbildungsinhalte in Kursen der zytologisch-mikroskopischen Knochenmarks-Diagnostik für Fortgeschrittene in den Vordergrund gestellt werden sollten.

- Zu analysieren, von welchem Schwierigkeitsgrad der zytomorphologischen Diagnostik an es vermehrt Probleme mit der Diagnosestellung gibt, bei einem vom Ringversuchsleiter prospektiv aber subjektiv definiertem diagnostischem Schwierigkeitsgrad.
- Zu untersuchen, ob es Lösungsansätze/Hilfestellungen für eine Verbesserung der Qualität der zytomorphologischen Diagnostik gibt.

Die Ringversuche erfolgten über die Jahre 2001 bis 2006. Ein Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Facharztgruppen (z.B. Hämatologe versus Labormediziner) oder der einzelnen Berufsgruppen (Medizinisch-technischer Assistent versus Arzt) wurde nicht durchgeführt, um mit den gewonnenen Daten keine Qualitäts-Debatten mit berufspolitischem Anstrich auszulösen. Einzelfälle mit schlechten Ergebnissen gab es in jeder Facharztgruppe und bei jedem Krankenhausstyp (Universitätsklinik versus kommunales oder konfessionelles Krankenhaus).

2.3 Materialien

Versandt wurden in jedem Fall Knochenmarks-Ausstriche, meist kombiniert mit Blutausstrichen. Auf einem üblichen Objektträger mit einer Größe von 76 x 26 mm, 1,0 mm Dicke und Mattrand erfolgte ein Blutausstrich des peripheren Blutes oder des Knochenmarks in bewährter Technik.⁶²

Knochenmark wird üblicherweise über eine Punktion der Spina iliaca posterior superior gewonnen. Dies ist weniger schmerzhaft als die Sternalpunktion und ermöglicht zeitgleich eine Biopsie respektive Histologiegewinnung. Kontraindikationen sind bekannte Gerinnungsstörungen. Bei einem Zustand nach Beckenbestrahlung oder einer extremen Adipositas ist die Sternalpunktion zu bevorzugen.⁶²

In den Ringversuchen wurden die üblichen und häufigsten Färbetechniken der zytologischen Präparate genutzt, so dass eine einwandfreie Beurteilung der Präparate, unter den allgemeinen Bedingungen in jeder Institution, möglich war.

Die am meisten genutzte hämatologische Färbung ist die panoptische Färbung nach Pappenheim.¹¹ Diese Färbung stellt eine Kombination aus Giemsa- und Jenner-May-Grünwald-Färbung dar. Anleitung (unter Berücksichtigung der Änderungen durch die Fa.Merck 1992).^{62, 11}

Da die Rezepte je nach Labor sehr stark variieren und eine gleichbleibende Standardisierung fehlte, erfolgte über die DGHO eine Standardisierungsvorschlag.¹⁰

Zusätzliche erfolgte in einigen Fällen eine Eisenfärbung von Knochenmarksausstrichen um den Eisengehalt für eine erweiterte Differentialdiagnostik auszunutzen (z.B. RARS oder Hypochrome Anämien).⁶²

2.4 Auswahl der Präparate:

Die Wahl der Präparate entstammt dem diagnostischen Aufkommen einer mittelgroßen hämatologischen Klinikambulanz und geschah somit im Rahmen der typischen diagnostischen Fragen einer Ambulanz und einer Klinik. Die Präparate wurden im Rahmen der normalen Diagnostik zusätzlich zu den notwendigen Ausstrichen angefertigt. Somit musste im Einzelfall eine relativ geringe Zahl von Markbröckchen hingenommen werden.

Bezüglich der Ambulanz standen naturgemäß Leukozytopenien, Anämien, Leukozytosen oder Lymphomabklärungen im Vordergrund. In der Klinik stellen sich etwas andere Fragen wie z.B. der Remissionsstatus im Rahmen einer AML-Therapie. Die Präparate stellen also einen Querschnitt aller typischen Präparate aus diesem Bereich dar.

Üblicherweise wurden bei einem Patienten, der zur Diagnostik in der Ambulanz vorgestellt wurde, mehrere Ausstriche vom Knochenmark und vom peripheren Blut angefertigt. Die Diagnose wurde gestellt und überprüft mit der Frage, ob sich der Fall bzw. die Ausstriche für den Ringversuch eignen.

Nach erfolgter Zuordnung wurden pro Labor verschiedene Präparate sortiert und in eine Mappe eingeordnet. Hierbei wurde auf die Qualität der Färbung, die Möglichkeit der sicheren Diagnosestellung und auf eine faire Präparate-Auswahl mit vergleichbarem Schweregrad geachtet. Die Präparate-Bezeichnung wurde verschlüsselt. Die Präparate wurden vor dem Verschicken und nach der Beurteilung durch das zu prüfende Labor vom Ringversuchsleiter auf die o.g. Kriterien hin beurteilt und zur Prüfung freigegeben (s. Abb. 32). Die Teilnehmer erhielten neben den fünf oder zehn Präparaten pro Ringversuch noch Laborwerte und einige wenige klinische Angaben zu dem Patienten. Zusätzlich wurde ein tabellarischer Antwortbogen mitgeschickt, der eine genaue Differenzierung und Klassifizierung der Befunde ermöglichte (Kap. 6.3 s. Anhang). Unter anderem sollte hier auch die Qualität der Ausstriche und der Färbung beurteilt werden.

3. Ergebnisse

3.1 Summarische Ergebnisse / Statistik :

Im Verlauf der Ringversuche wurden etwa 200 Knochenmarkausstriche von 58 Patienten auf 30 Präparatemappen verteilt. Nach dem anfangs 135mal je 10 Präparate pro Ringversuch verschickt wurden, erhielten die Teilnehmer ab 2004 85mal 5 Präparate pro Ringversuch. Die Ringversuchsmappen wurden insgesamt 220mal von insgesamt 86 Laboratorien angefordert. Letztendlich kamen 1772 Einzelpräparate zur Auswertung.

Der Schwierigkeitsgrad, der einzelnen Präparate war, wie in Tabelle 1 dargestellt, sehr unterschiedlich. Zuvor wurde für jedes Präparat der diagnostische Schwierigkeitsgrad vom Ringversuchsleiter subjektiv festgelegt. Für Grad 1 wurde die niedrigste und für Grad 4 die höchste Fehlerquote erwartet. Der Schwierigkeitsgrad 1 bedeutete, dass in

jedem Fall die korrekte Diagnose sehr leicht zu stellen war. Grad-2-Fälle sollten erkannt werden, Grad-3/4-Fälle waren deutlich schwieriger zu diagnostizieren. Bei solchen Präparaten waren Fehldiagnosen primär zu erwarten (s. Tab.1; Tab. 2). Die Teilnehmer hatten den Ringversuch bestanden, wenn sie mindestens 60 % der maximal möglichen Punkte erreicht hatten. Sie erhielten eine individuelle Auswertung des Ringversuchs unter besonderer Berücksichtigung der nicht korrekt beurteilten Fälle oft mit erläuternden Videoprints der diagnostisch wichtigen Zellen.

Die Teilnehmer nahmen auf freiwilliger Basis an den Ringversuchen teil und wurden nicht speziell ausgesucht, so dass sehr unterschiedliche Facharztgruppen an den Ringversuchen beteiligt waren. Der Schwierigkeitsgrad war nicht für jeden Teilnehmer gleich, wobei die Unterschiede aber bei der abschließenden Punktevergabe berücksichtigt wurden. Ein Vergleich der einzelnen Fachgruppen war zum einen durch INSTAND nicht gewünscht, ist aber aufgrund des nicht festgelegten Auswahlverfahrens naturgemäß nicht sinnvoll. Hier wäre eine gezielte Planung und Auswahl der Teilnehmer erforderlich gewesen, was aber wiederum die Qualität der Teilnehmer, die regelmäßig und viel mikroskopieren, nicht ausreichend erfasst hätte.

**Tabelle 1: Nach Diagnosen unterteilte Schwierigkeitsgrade zum Ringversuch
(Grad 1 sehr leicht bis Grad 4 sehr schwer)**

Diagnose	Schwierigkeit	Diagnose	Schwierigkeit
ALL T-Reihe*	2	Karzinose Fall 1	4
ALL Vollremission Fall 1	3	Karzinose Fall 2	2
ALL Vollremission Fall 2	3	Karzinose Fall 3	2
AML	2	Karzinose Fall 4	3
AML M2 Fall 1	2	Marginalzonen-Lymphom	3
AML M2 Fall 2	2	MDS 5q-	3
AML M2 Fall 3	2	MDS PB	3
AML M2 hypoplastisch	3	MDS RAEB Fall 1	3
AML M3	3	MDS RAEB Fall 2	2
AML M3V	3	MDS RARS Fall 1	2
AML M4	2	MDS RARS Fall 2	3
AML M4Eo	3	MDS RARS Fall 3	3
AML M6	3	MPN CML	2
AML ohne Remission	2	MPN ET Fall 1	2
AML Vollremission Fall 1	2	MPN ET Fall 2	3

AML Vollremission Fall 2	3	MPN Ph-	3
AML Vollremission Fall 3	3	MPN PV Fall 1	2
Aplastische Anämie Fall 1	2	MPN PV Fall 2	2
Aplastische Anämie Fall 2	2	Normalbefund Fall 1	2
CLL Fall 1	2	Normalbefund Fall 2	2
CLL Fall 2	2	Normal Fall 3	2
CLL Fall 3	2	Normal Fall 4	2
Hämolyse	3	Normal Fall 5 MGUS	3
Haarzellen-Leukämie	4	Plasmocytom Fall 1	1
Idiopathische thrombozyto- penische Purpura ITP Fall 1	2	Plasmocytom Fall 2	1
ITP Fall 2	2	Plasmocytom Fall 3	1
Megaloblastäre Anämie Fall 1	3	Plasmocytom Fall 4	1
Megaloblastäre Anämie Fall 2	3	Plasmocytom Fall 5	3
PRCA Fall 2	3	PRCA Fall 1	4

*(Abkürzungsverzeichnis siehe Anhang S. 85)

Der Tabelle 1 ist zu entnehmen, dass für jede Erkrankung unterschiedliche Präparate zur Verfügung gestellt wurden. Auf der einen Seite sollten Wiederholungen vermieden werden, auf der anderen Seite waren im Verlauf der verschiedenen Ringversuche auch neue Präparate notwendig.

In Tabelle 1 und 2 zeigt sich der Zusammenhang zwischen der Zahl der falschen Diagnosen und dem ursprünglich festgelegten Schwierigkeitsgrad insbesondere zwischen Grad 2 und 3. Grad 1 und 4 waren für eine weitere Beurteilung zu selten. Deutlich wird hier, dass Präparate ein und derselben Erkrankung einen sehr unterschiedlichen Schwierigkeitsgrad haben. Diese Einschätzung ist zunächst willkürlich festgelegt und Bedarf der Weiteren der Überprüfung. Setzt man Fehlerrate und Schweregrad in Beziehung, so ergibt sich folgende Tabelle.

Tabelle 2: Fehlerquoten der Schwierigkeitsgrade 2 und 3 (Vorgabe durch den Ringversuchsleiter):

Grad 2	Falsche Diagnose %	Grad 3	Falsche Diagnose %
ITP	3,9	AML Remissionsstatus	7,9
AML o. Remission	4,0	MGUS	4,4
MPN	10,0	Plasmocytom	2,4
AML	5,6	Karzinose	4,4
Normal	10,3	ALL Remissionsstatus	10,6
CLL	8,1	Hämolyse	13,9
PRCA	10,0	Megaloblastäre Anämie	15,1
		5q-Syndrom	34,6
		RAEB	35,1

Statistische Analyse

Aus den im Rahmen der Ringversuche erhobenen Daten (s. Kap.3.1) erfolgte eine deskriptive Auswertung. Es wurde untersucht, ob sich die Ergebnisse in den Ringversuchen in den Jahren 2001 bis 2006 verbessert haben. Weitere Zielparameter sind die Fehlerrate in Prozent pro Diagnose und Teilnehmer (s. Kap.3).

Die Berechnung der Statistik erfolgt mittels des Programms IBM SSPS Statistics Version 2015 („Statistic package for the Social Sciences“).

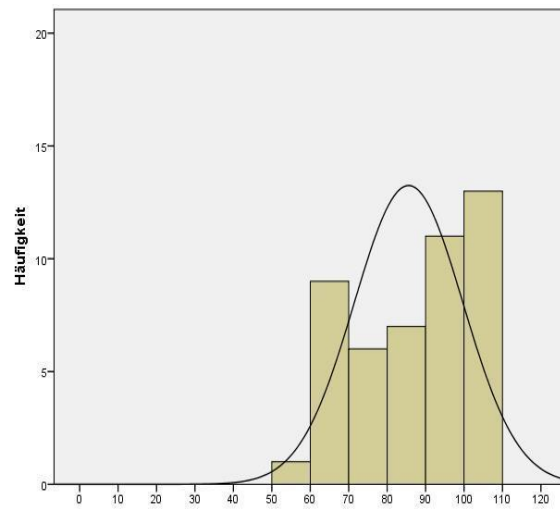
Statistische Ergebnisse

Tabelle 3: Statistische Parameter

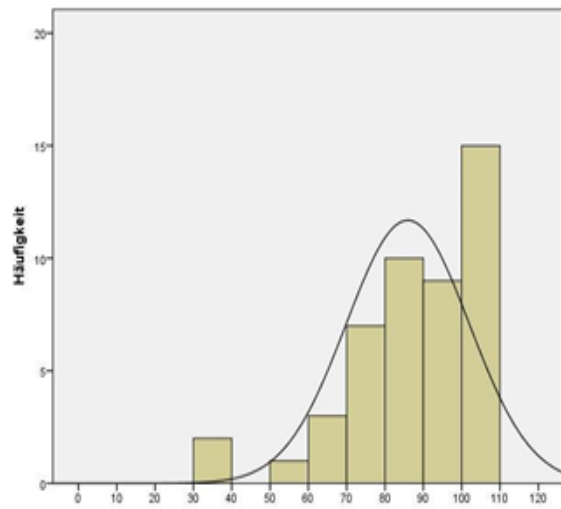
Statistiken		J2001	J2002	J2003	J2004	J2005
N	Gültig	47	47	34	26	12
	Fehlend	0	0	13	21	35
Mittelwert		85,57	85,94	87,88	88,77	83,50
Standardfehler des Mittelwertes		2,064	2,341	2,964	2,775	5,175
Median		90,00	90,00	93,00	94,50	86,00
Standardabweichung		14,152	16,047	17,285	14,149	17,927
Minimum		53	34	19	58	46
Maximum		100	100	116	100	100
Perzentile	25	74,00	79,00	79,00	77,50	71,00
	50	90,00	90,00	93,00	94,50	86,00
	75	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Die Bewertung schließt nur die Institute/Labore oder Praxen über die Jahre 2001-2005 ein, die mehrfach an den Ringversuchen teilgenommen hatten. Die Teilnehmerzahl für das Jahr 2006 war für eine Auswertung zu gering. Insgesamt zeigt sich ein Absinken der Teilnehmerzahl über die Jahre von 47 im Jahr 2001 auf 12 im Jahr 2005. Der Mittelwert der erreichten Punktzahl schwankt zwischen 83,5 (2005) und 88,77 (2004) und ist immer kleiner, als der Median, so dass die Daten nicht symmetrisch sind. Wie in den Histogrammen dargestellt (s. Abb. 2-6) sind die Verteilungen fast immer linksschief. Die Standardabweichung, als Ausdruck der Entfernung vom Mittelwert, liegt über die Jahre zwischen 14,152 (2001) und 17,927 (2005) Punkte und ist somit relativ gross, was für eine relativ starke Abweichung innerhalb der untersuchten Gruppen spricht bzw. Ausdruck einer starken Streuung der Daten ist. Insbesondere in dem Jahr 2003 finden sich Ausreisser nach oben mit 116 % und nach unten mit 19 %. Nach unten finden sich aus Ausreisser in den Jahren 2002 (34 %) und 2005 (46 %). Zusammenfassend zeigen die rechtssteilen Histogramme eine relativ hohe Rate an richtigen Antworten, wobei sich eine Veränderung über die Zeit bei starker Streuung der Daten nicht dokumentieren lässt, und somit das edukative Ziel bzw. ein Lerneffekt nicht nachweisen lässt. Grund mag ein systematischer Fehler, aufgrund einer im Alltag stark wechselnden Zuständigkeit der jeweiligen Untersucher, in den teilnehmenden Insituten oder Kliniken, sein.

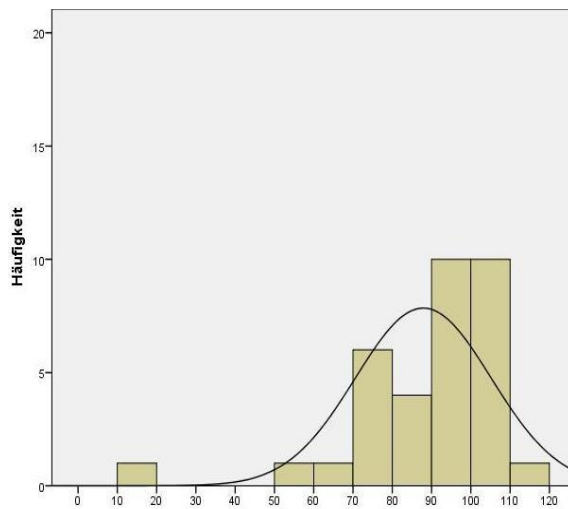
Histogramme und Boxplot der Ringversuche (RV) von 2001 bis 2005:



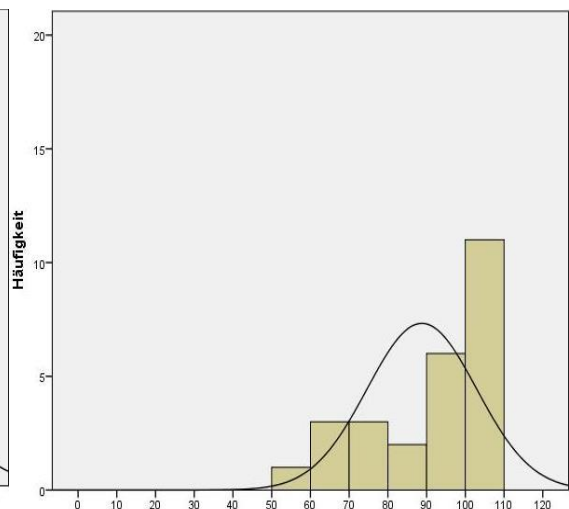
**Abb. 2: Verteilung der Gesamtpunktzahl
RV 2001**



**Abb. 3: Verteilung der Gesamtpunktzahl
RV 2002**



**Abb. 4: Verteilung der Gesamtpunktzahl
RV 2003**



**Abb. 5: Verteilung der Gesamtpunktzahl
RV 2004**

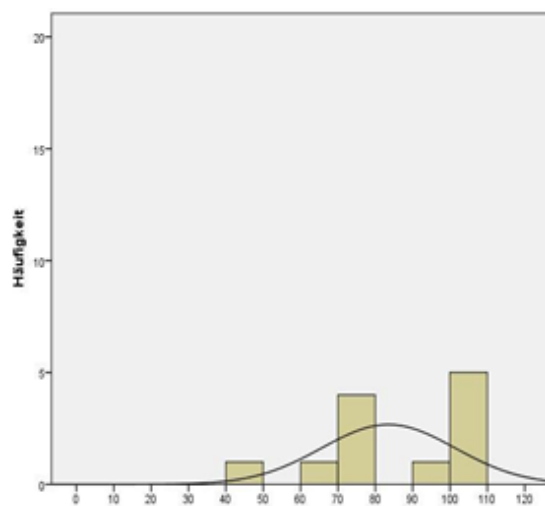


Abb. 6: Verteilung der Gesamtpunktzahl RV 2005

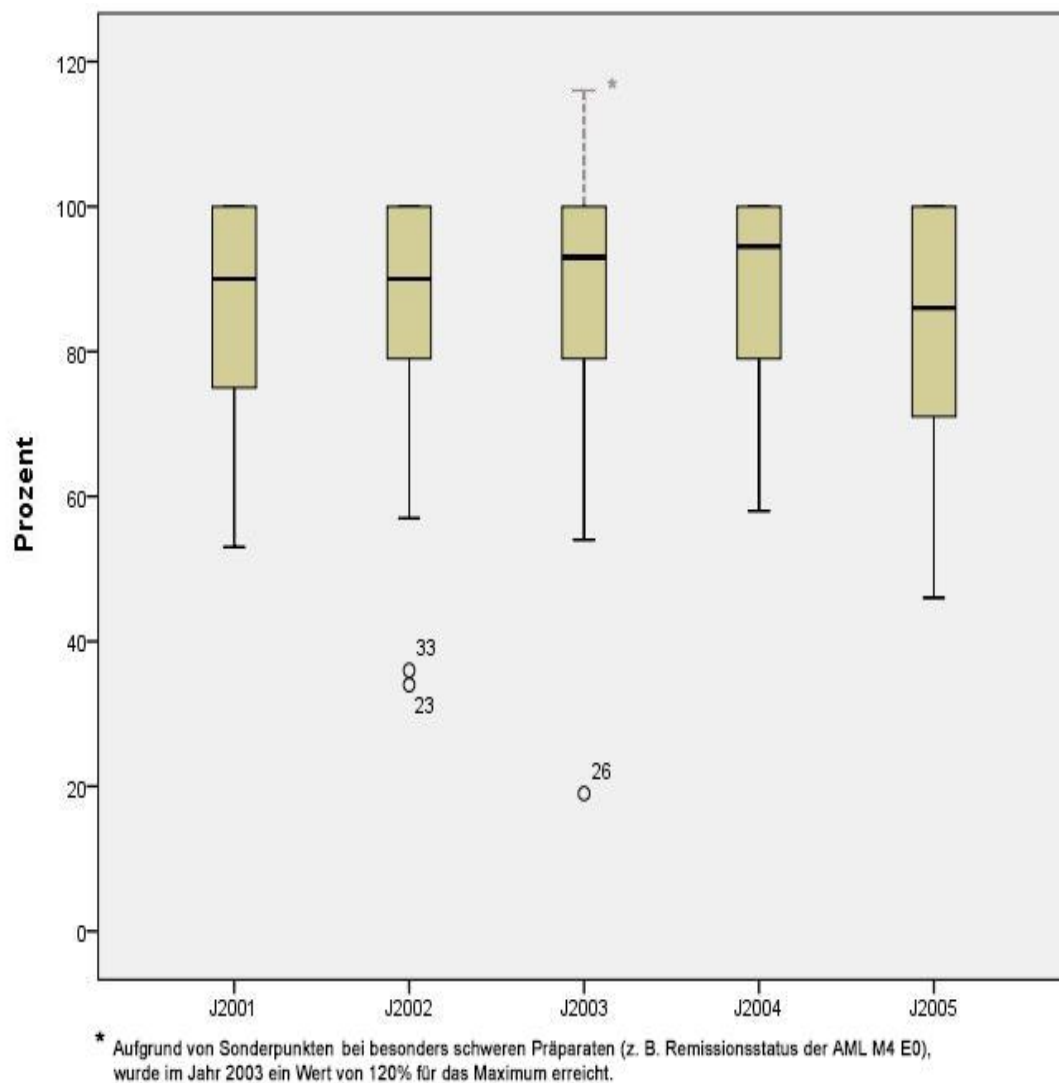


Abb. 7: Boxplot über die Jahre 2001-2005

Ähnlich wie die Histogramme (s. Abb. 2-6) zeigen die Boxplots über die Jahre 2001 bis 2005 (s. Abb. 7) eine Streuung der Daten zwischen 75 und 100 %. Aufgrund der Schiefe der Daten kann nicht von einer Nominalverteilung ausgegangen werden. Auffällig ist ein Whisker im Jahre 2003 der bis 120 % reicht. Am unteren Enden der Daten finden sich im Jahr 2002 und 2003 Ausreißer in Höhe 35-40 % und in Höhe 20 %. Über die Jahre zeigt sich ein Absinken der Fallzahl N. Die Daten aus dem Jahr 2006 wurden aufgrund einer geringen Fallzahl weggelassen.

Statistische Tests:

Tabelle 4: Friedmann-Test über 5 Jahre

Jahr	Mittlerer Rang	N	12
2001	3,38	Chi-Quadrat	2,314
2002	2,71	df	4
2003	3,13	Asymptotische	,678
2004	3,17	Signifikanz	
2005	2,63		

Tabelle 5: Friedmann-Test über 3 Jahre

Jahr	Mittlerer Rang	N	34
2001	2,06	Chi-Quadrat	,475
2002	1,91	df	2
2003	2,03	Asymptotische	,789
		Signifikanz	

Analyse von gemischten Modellen:

Tabelle 6: Modelldimension:

	Anzahl Auspräg- ungen	Kovarianz struktur	Anzahl Para- meter	Subjekt- variablen	Anzahl der Fälle
Feste Effekte Konst. Term	1	Unstrukturiert	1		
Jahr	5		4	Ort	47
Wiederholte Effekte Jahr	5		15		
Gesamt	11		20		

^a; Abhängige Variabel: Wert

Tabelle 7: Informationskriterien

Eingeschränkte-2 Log Likelihood	1349,364
Akaike-Informationskriterium (AIC)	1379,364
Hurvich und Tsai (IC)	1382,674
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	1440,585
Bayes-Kriterium (BIC)	1425,585

Die Informationskriterien werden in kleinstmöglicher Form angezeigt

a; Abhängige Variabel: Wert

Feste Effekte:

Tabelle 8: Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	18,070	3171,059	,000
Jahr	4	22,624	,618	,654

Die Prüfung der Daten erfolgte mittels eines nichtparametrischen Tests, da die Daten nicht normalverteilt sind, sonst wären die Boxplots symmetrischer. Im sog. Friedman-Test, wurden die Daten auf Unterschiede zwischen den Jahren getestet (Nullhypothese war hier, dass der Faktor Jahr keinen Einfluss hat). Hier wurden nur Orte berücksichtigt, die Werte für alle 5 Jahre haben, was die Gruppe klein macht ($N=12$). Alternativ betrachtet sind die Daten deutlich vollständiger und die Zahl der Teilnehmer höher, wenn man den Test über die ersten drei Jahre durchführt ($N=34$) (s. Tab.5). Für beide Betrachtungen zeigt sich ein nicht signifikanter Einfluss des Faktors „Jahr“ ($p>0,05$, s. Tab. 4 und Tab. 5), so dass keine weiteren post hoc Tests angeschlossen wurden, um auf signifikante Unterschiede zwischen jeweils zwei Jahren zu schauen. Es wurde zu einem Signifikanzniveau von 5 % getestet. Die Nullhypothese, dass der Faktor Jahr keinen Einfluss auf die Fehlerrate hat, wird somit beibehalten. Als Sensitivitätsanalyse, wurde die Nullhypothese, dass der Faktor „Jahr“ keinen Einfluss auf die Fehlerrate hat, mittels eines gemischt linearen Modells statistisch geprüft, da hier alle Beobachtungen berücksichtigt werden können d.h. alle Orte (Subjekte) werden in der Analyse eingeschlossen auch wenn nicht Werte zu allen Jahren vorhanden sind. Die Variable „Jahr“ als Innersubjektfaktor mit den fünf Faktorstufen 2001, 2002, 2003, 2004 und 2005 ging als fester Faktor in das Modell ein. Eine unstrukturierte Kovarianzstruktur wurde zur Modellierung der Innersubjektkorrelation verwendet. Die Ergebnisse des Modells können jedoch nur eingeschränkt interpretiert werden, da man nicht von einer Normalverteilung ausgehen kann. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen des nichtparametrischen Tests zeigt sich auch hier kein Einfluss des Faktors „Jahr“ ($p = 0,654$, s. Tab. 8)

3.2 Perspektive 1: Wie häufig wurde eine gegebene Diagnose verfehlt?

Für die spezielle Fehler-Auswertung wurden nur die Diagnostik-Ergebnisse solcher Einrichtungen herangezogen, die mehr als 70 % der maximal möglichen Punkte erreicht hatten. Damit wurden 13 der 86 Ringversuchsteilnehmer von der Fehler-Auswertung ausgeschlossen. Insgesamt gingen somit 15 der 220 Ringversuche nicht in die Fehleranalyse ein. Die Analyse der Fehler wurde unter zwei Blickwinkeln durchgeführt.

Perspektive 1 ist, wie häufig eine gegebene Diagnose verfehlt wurde. Bei der Haarzell-Leukämie war dies zum Beispiel bei 19.0 % der Fall (Tab. 9 und 19, Abb. 27). Dieser Aspekt der Analyse ist im Abschnitt 3.2 dargestellt.

Bei Perspektive 2 wird die Frage gestellt, wie häufig eine von den guten Ringversuchsteilnehmern gestellte Diagnose auch wirklich zutrifft und was sich alternativ noch hinter deren Diagnose verbergen kann (Abschnitt 3.3). Wurde von den Ringversuchsteilnehmern die Diagnose einer Haarzell-Leukämie gestellt, war diese Diagnose in jedem Fall richtig.

Folgende Fehldiagnose-Häufigkeiten waren bei den verschiedenen Erkrankungen zu verzeichnen:

Tabelle 9: Fehlerquote in Prozent nach zytomorphologischer Diagnose

	Diagnose	Ringversuchs- anzahl	Falsche Diagnosen %
3.2	Myelodysplastische Syndrome	149	23,5 %
3.2.1	RAEB	57	35,1 %
3.2.2	5q-Minus	26	34,6 %
3.2.3	RARS	38	11,5 %
3.2.4	RCMD	14	0 %
3.3	Akute myeloische Leukämien	215	5,6 %
3.4	Megaloblastäre Anämie	33	15,1 %
3.5	Non-Hodgkin-Lymphome	164	13,4 %
3.5.1	Marginalzonenlymphom	47	10,6 %
3.5.2	Chronische lymphatische Leukämie	62	8,1 %
3.5.3	Haarzell-Leukämie	62	19,0 %
3.6	Plasmazell-Myelom	209	2,4 %
3.7	Myeloproliferative Neoplasien	150	10,0 %
3.8	Knochenmarkkarzinose	95	4,4 %
3.9	Pure red cell aplasia	88	10,0 %
3.10	Hämolytische Anämie	36	13,9 %
3.11	Idiopathische thrombozytopenische Purpura	51	3,9 %
3.12	Normales Knochenmark	97	16,1 %
3.12.1	MGUS	35	5,7 %

3.13	Remissionsstatus bei akuten myeloischen Leukämien Zieldiagnose Vollremission	65	7,9 %
3.13.1	AML M4 E0	58	6,9%
3.13.2	AML mit persistierender Leukämie	25	4,0%
3.14	Remissionsstatus bei akuten lymphatischen Leukämien	85	10,6 %

3.2.1 Myelodysplastische Syndrome

Definition: Unter dem Begriff myelodysplastisches Syndrom (abgekürzt MDS, auch Myelodysplasie) wird eine Gruppe von Erkrankungen des Knochenmarks zusammengefasst, bei denen die Blutbildung nicht von gesunden, sondern von neoplastischen, genetisch veränderten Ursprungszellen ausgeht.⁵ Diese Stammzellen sind in ihrer Ausreifung gestört. Zytomorphologische Kennzeichen sind nicht-normales Aussehen von Blut- und Knochenmarkzellen, Dysplasie genannt, verbunden mit meist aber nicht immer verminderter Produktion von Blutzellen²⁹ (s. Abb. 11-15). Zytologisch wird der Grad der Dysplasie aller drei Zellreihen im Knochenmark, der Prozentsatz der Blasten im Blut und Knochenmark festgelegt.^{35, 39} Die zytogenetische Diagnostik ist zur Identifikation bestimmter Subtypen, MDS mit del(5q), und zur Prognoseeinschätzung notwendig (IPSS-Score).^{37, 38}

Auswertung: Im Rahmen der Ringversuche wurden Knochenmarks-Ausstriche von insgesamt 5 Patienten mit MDS-Diagnose verschickt. Die Diagnosen lauteten:

- Zwei Patienten mit MDS RAEB 1
- 5-q-minus MDS
- RARS
- Myelodysplastische Neoplasie, nicht klassifizierbar

Tabelle 10: MDS Auswertung aller Fälle

MDS Gesamtzahl	149
Falsche Diagnose	35
Richtige Diagnose	114

Die Beurteilungen von 149 Teilnehmern wurden berücksichtigt: Bei 114 Teilnehmern wurde die Beurteilung als richtig gewertet, bei 35 als falsch. Dies entspricht einer Falsch-Beurteilungsrate von 23,5 %. Als richtig gewertet wurde dabei jede angegebene MDS-Kategorie, auch wenn der versandte Fall einer genau definierbaren Kategorie wie

dem einer RAEB entsprach und der Ringversuchsteilnehmer z.B. ein MDS ohne nähere Spezifizierung oder eine CMML angegeben hatte. Als richtig gewertet wurde auch, wenn die Diagnose nur als Verdachtsfall und nicht als sichere Diagnose angegeben wurde.

Refraktäre Anämie mit Blastenexzess (RAEB)

Definition: Die refraktäre Anämie mit Blastenexzess (RAEB) zählt zu den myelodysplastischen Syndromen mit einem Myeloblastenanteil von 5-19 % im Knochenmark. Aufgrund eines Prognoseunterschiedes wird eine RAEB abhängig von dem prozentualen Anteil der Myeloblasten im Knochenmark in RAEB-1 (5-9 %) und RAEB-2 (10-19 %) unterteilt. Patienten mit 5-19 % Myeloblasten im Blut und < 10 % im Knochenmark werden der RAEB-2 Gruppe zugeordnet. Ein RAEB mit Auerstäbchen und einem Knochenmarkbefall < 20 % ist nicht sicher geklärt, muss aber als RAEB-2 bezeichnet werden.⁸¹

Auswertung: Bei den 57 RAEB-Fällen gab es 20 falsche und 37 richtige Beurteilungen (s. Abb. 11-15).

Tabelle 11: Auswertung Myelodysplasie Typ RAEB

Gewertete Diagnose bei MDS vom Typ RAEB

RAEB		57
Falsche Diagnose		20
Richtige Diagnose		37

Als richtig gewertete Diagnosen

RAEB		25
CMML		1
MDS ohne weitere Spezifizierung		6
V.a. RAEB		3
V.a. MDS ohne weitere Spezifizierung		2

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen

Reaktive Veränderungen		12
AML		2
Anämie		1
V.a. AML		1
V.a. Panzytopenie nicht klassifizierbar		1
V.a. Lymphom		1
V.a. reaktive Veränderungen		2

Bei der Myelodysplasie vom Typ RAEB findet sich insgesamt mit 35,1 % mit einer der höchsten Fehlerraten. In 24,6 % der Fälle wurden statt einer Myelodysplasie reaktive Veränderungen gesehen oder vermutet, dreimal wurde eine akute myeloische Leukämie diagnostiziert, einmal ein Non-Hodgkin-Lymphom, einmal eine Panzytopenie und einmal eine nicht weiter klassifizierte Anämie. Als sichere Diagnose wurden 32 Fälle gewertet, wobei sechsmal der Subtyp nicht spezifiziert und einmal eine CMML diagnostiziert wurde, eine Verdachtsdiagnose stellten fünf Teilnehmer.

Myelodysplasie assoziiert mit einem isolierten Verlust (del 5q) Definition:

Das sog. „5q-Syndrom“ gehört zu den myelodysplastischen Syndromen und ist mit einer zytogenetischen Besonderheit assoziiert. So besteht typischerweise ein Verlust von Chromosomenanteilen am langen Arm des Chromosoms 5. Es wurde früher der Subgruppe der refraktären Anämie (RA) und der refraktären Anämie mit Ringsideroblasten (RARS) zugeordnet. Die Zahl der Blasten beträgt im Blut und Knochenmark < 5 %.⁶⁴ Dysplasien treten vor allem innerhalb der Erythropoese auf. Die Anzahl der Ringsideroblasten sollte < 15 % sein. Diese Form der Myelodysplasie tritt gehäuft bei älteren Frauen auf und imponiert klinisch mit einer makrozytären Anämie und normalem bis erhöhten Thrombozytenwerten.⁶⁴

Der typische Knochenmarksbefund zeigt Megakaryozyten von annähernd normaler Größe mit verminderter Kernsegmentierung.⁴⁷ Sogenannte Mikromegakaryozyten kommen oft zusätzlich vor und zeigen einen typischen kleinen und runden Kern mit weitgehend ausgereiftem Zytoplasma.⁶⁵ Diese können aber auch bei anderen Formen des myelodysplastischen Syndroms vorkommen.⁶⁴

Auswertung: Bei den 26 Fällen von 5-q-minus-Myelodysplasie gab es 9 falsche und 17 richtige Beurteilungen.

Tabelle 12: Auswertung Myelodysplasie Typ 5q-Syndrom

Gewertete Diagnosen bei MDS Typ 5q-Syndrom:

5-q-minus-MDS		26
Falsche Diagnose		9
Richtige Diagnose		17
V.a. 5-q-minus-MDS		9

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen

Reaktive Veränderungen		5
Plasmozytom		1
Megaloblastäre Anämie		1
V.a. reaktive Veränderungen		2

Auch bei dem myelodysplastischen Syndrom assoziiert mit Deletion am langen Arm von Chromosom 5 (del 5q) findet sich mit 34,6 % insgesamt eine hohe Fehlerrate. Statt einer Myelodysplasie wurden reaktive Veränderungen erneut mit ca. 27 % relativ oft diagnostiziert. Nur etwa jeder dritte Teilnehmer ist sich seiner gestellten Diagnose sicher.

Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS)

Definition: Die Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten zählt zu den myelodysplastischen Syndromen charakterisiert durch eine Anämie, bei in Knochenmarkausstrichen 15 % oder mehr aus Ringsideroblasten dokumentiert werden können. Der Ringsideroblast ist definiert als ein Vorläufer der Erythrocyten, in denen Eisengranula über mehr als 1/3 der Kernoberfläche verteilt liegen. Dazu wird eine spezielle Eisenfärbung benötigt. Der Myeloblastenanteil liegt bei ca. 5 %. Differentialdiagnostisch sind Alkoholmissbrauch und die Einnahme von Tuberkulostatika abzugrenzen.⁴⁶

Tabelle 13: Auswertung Myelodysplasie Typ RARS

Auswertung: Bei den 52 Fällen von RARS gab es 6 falsche und 46 richtige Beurteilungen

Gewertete Diagnosen bei MDS Typ RARS:

RARS		52
Falsche Diagnose		6
Richtige Diagnose		46

Als „richtig“ gewertete Diagnosen

RARS		33
MDS ohne weitere Spezifizierung		8
V.a. RARS		4
V.a. MDS ohne weitere Spezifizierung		1

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen

Myeloproliferative Neoplasie		2
Reaktive Veränderungen		1
Megaloblastäre Anämie		2
V.a. megaloblastäre Anämie		1

Die Fehlerrate ist mit 11,5 % deutlich niedriger wie bei den Myelodysplasien vom Typ RAEB und 5q-Minus. Eine direkte Diagnose des RARS wird in immerhin 63,5 % der Fälle gestellt.

Refraktäre Anämie mit Mehrliniendysplasie (RCMD)

Definition: Die refraktäre Zytopenie mit multilineärer Dysplasie (RCMD) ist ein myelodysplastisches Syndrom mit Bilytopenie oder Panzytopenie, und dysplastischen Veränderungen in >10 % der Zellen in 2 oder mehr Zelllinien des Knochenmarks. Es sind weniger wie 1 % Myeloblasten im Blut und weniger als 5 % Myeloblasten im Knochenmark. Auerstäbchen werden nicht auffallen. Die Monozytenzahl im Blut liegt bei 1×10^9 .¹⁷

Auswertung: In allen 14 Fällen wurde die richtige Diagnose gestellt.

Tabelle 14: Auswertung Myelodysplasie Typ RCMD:

Als „richtig“ gewertete Diagnosen

MDS		10
V.a. MDS		4

Bei dem myelodysplastischen Syndrom vom Typ RCMD fällt eine hohe Rate an richtigen Diagnosen auf, wobei die geringe Zahl eine statistische Relevanz praktisch ausschließt.

3.2.2 Akute myeloische Leukämie

Definition: Akute Leukämien sind klonale, heterogene Erkrankungen molekular-genetisch veränderter hämatopoetischer Vorstufen, bei denen eine oder alle Zellreihen der Hämatopoese beteiligt sein können.¹⁰³ Der proliferierende leukämische Zellklon kann die normale Haematopoese in unterschiedlichem Grade ersetzen. Am häufigsten sind die Granulo- und die Monozytopoese, seltener die Erythropoese und am seltensten die Megakaryopoese betroffen.⁶⁶ Die weltweite Inzidenz liegt bei 2,5 - 3 Fällen auf 100.000 Einwohner. Das mediane Alter liegt bei 65 Jahren.¹⁰⁶ Die Klassifizierung erfolgt mittels der modifizierten FAB- und der WHO-Klassifikation.⁶⁶

WHO-Definition: “Acute myeloid leukaemia (AML) is a clonal expansion of myeloid blasts in bone marrow, blood or other tissue”.¹⁰³

Die WHO-Klassifikation unterscheidet mit Hilfe von Morphologie, Immunphänotyp, Zytogenetik/Molekularbiologie und klinischen Aspekten, um eine biologisch homogene Erkrankung mit klinischer Relevanz zu definieren. Daraus entstehen 8 Hauptgruppen.⁹⁵

1. Acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities
2. Acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes¹⁰⁹
3. Therapy-related myeloid neoplasms
4. Acute myeloid leukaemia, not otherwise specified (NOS)
5. Myeloid sarcoma
6. Myeloid proliferations related to Down Syndrome
7. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm
8. Acute leukaemias of ambiguous lineage

FAB-Klassifikation: s. Kapitel 7.3 (Hämatologische Klassifikationen)

Auswertung: Knochenmarks-Ausstriche von 8 Patienten mit AML-Diagnose wurden 235 Mal an Ringversuchsteilnehmer verschickt. Die rein morphologischen Diagnosen lauteten:

- 4 x AML M2
- 2 x AML M3 (s. Abb. 16-20)
- 1 x AML M4 (s. Abb. 21-23)
- 1 x AML M6

Auswertung: 29 Fälle der 13 Einrichtungen unterhalb der 70 %-Grenze wurden in dieser Auswertung erneut nicht berücksichtigt. Bei den verbleibenden 215 AML-Auswertungen der besseren Teilnehmer gab es 12 falsche Beurteilungen und somit 203 richtig beurteilte Fälle. Von einer falschen Beurteilung wurde ausgegangen, wenn die Diagnose einer AML nicht gestellt wurde. Als komplett richtig gewertet wurde, wenn auch der morphologische Subtyp der Leukämie getroffen wurde. Als falscher Subtyp ohne therapeutische Relevanz wurde beispielsweise gewertet, wenn morphologisch eine AML M3 bei einer AML M2 diagnostiziert wurde. Prinzipiell hätte diese Diagnose-Diskrepanz zwar therapeutische Relevanz, doch wird die AML-M3-Diagnose in jedem Fall molekularbiologisch abgesichert. Der umgekehrte Fall ist als deutlich problematischer zu werten, wenn die AML-M3-Natur einer Leukämie nicht erkannt wurde. Dann besteht die Gefahr, dass die orale Behandlung mit All-trans-Retinolsäure verspätet beginnt.

Tabelle 15: Auswertung der akuten myeloischen Leukämien

Gewertete Diagnosen: de novo AML

Gesamtzahl		215
Falsche Diagnose		12
Richtige Diagnose		189

V.a. AML M2		7
V.a. AML M3		3
V.a. AML M6		4

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Akute lymphatische Leukämie		2
Myelodysplasie		1
Lymphatische Neoplasie (LGL-Leukämie)		1
Panzytopenie nicht klassifizierbar		1
AML M2 statt M3V		1
AML M7		1
V.a. ALL		2
V.a. Myelodysplasie		2
V.a. Lymphatische Neoplasie		1

Bei der neuen Diagnose einer akuten myeloischen Leukämie findet sich eine Fehlerrate, die sich auf 12,1 % erhöht wenn der richtige Subtyp diagnostiziert werden soll.

3.2.3 Megaloblastäre Anämie

Definition: Unter dieser Bezeichnung wird eine Anämieform zusammengefasst, deren Hauptvertreter in Europa der Mangel an Vitamin B12 ist. Zytomorphologisch sind die sog. Megaloblasten kennzeichnend. Auch die Vorstufen der Granulopoese als auch die Megakaryozyten zeigen typische Veränderungen. Ursache können z.B. Resorptionsstörungen der Magen- und Dünndarmschleimhaut sein z.B. bei der Zöliakie oder dem Magenkarzinom.⁶³

Auswertung: Alle Fälle hatten einen Vitamin B12-Mangel, ein Folsäuremangel-Patient war nicht dabei. Insgesamt wurden von Patienten mit der Diagnose eines Vit-B12-Mangels 33 mal Knochenmarkspräparate an die unterschiedlichen Versuchsteilnehmer verschickt. Bei der genaueren Auswertung der 33 Fälle einer megaloblastären Anämie zeigen sich 28 richtige und fünf falsche Beurteilungen.

Alle fünf Fehlbeurteilungen basieren vor allem auf Problemen, ein myelodysplastisches Syndrom von der Anämie bei Vit-B12-Mangel zu differenzieren. Typischerweise werden die bizarr veränderte Erythropoese, die hypersegmentierten Megakaryozytenkerne, und die oft stark Eisengranula enthaltenden Erythroblasten fälschlicherweise für Teile einer Myelodysplasie gehalten (s. Abb. 24-26).

Tabelle 16: Auswertung der megaloblastären Anämie

Gewertete Diagnosen bei der megaloblastären Anämie:

Megaloblastäre Anämie		33
Falsche Diagnose		5
Richtige Diagnose		28
V.a. megaloblastäre Anämie		2

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Myelodysplasie ohne weitere Spezifizierung		2
Myelodysplasie speziell RAEB		1
V.a. Myelodysplasie		2

3.2.4 Non-Hodgkin-Lymphome

Definition: Allgemein: Reife B-Zell-Neoplasien sind klonale Proliferationen von B-Zellen in unterschiedlichen Stadien der Differenzierung, diese reichen von frühen B-Zellen bis zu reifen Plasmazellen. B-Zell-Neoplasien scheinen in mancher Hinsicht die normale B-Zell-Differenzierung zu wiederholen. Sie können daher ansatzweise entsprechend dem normalen B-Zell-Stadium klassifiziert werden. Trotzdem gibt es B-Zell-Neoplasien, die, wie z.B. die Haarzell-Leukämie, nicht eindeutig einer normalen B-Zell-Differenzierung entsprechen. Andere scheinen, wie z.B. die chronisch lymphatische Leukämie einen heterogenen Ursprung zu haben.⁵³

Morphologische, zytochemische Befunde, sowohl Immunphänotypisierung, Zytogenetik und Molekulargenetik sowie klinische Daten führen durch die WHO-Arbeitsgruppe nach den Prinzipien der REAL-Klassifikation (1994) zu einem neuen Konzept der Klassifikation von Non-Hodgkin-Lymphomen.⁵³

Insgesamt wurden 186 Präparate zum Thema Non-Hodgkin-Lymphome an die Versuchsteilnehmer verschickt. Erneut flossen 14 Beurteilungen der schwächsten Einrichtungen nicht in die Bewertung mit ein, so dass 172 Fälle verbleiben. Hiervon sind 142 richtig und 22 falsch beantwortet worden. 8 Fälle waren nicht auswertbar. Über alle indolenten Non-Hodgkin-Lymphome zeigt sich somit eine Fehlerrate von 13,4 %.

Nodales Marginalzonen B-Zell-Lymphom

Definition: Nodale Marginalzonen-Lymphome sind niedrig maligne Non-Hodgkin-Lymphome basierend auf morphologisch heterogenen kleinen reifen B-Zellen mit Marginalzellen (zentrozytisch), Zellen die Monozyten ähneln, kleine Lymphozyten, verstreute Immunoblasten und zentroblastenähnliche Zellen. In einem Teil der Fälle zeigt sich eine Plasmazelldifferenzierung. Das Infiltrat ist in der Marginalzone von reaktiven B-Zell-Follikeln und breitet sich in eine interfollikuläre Zone aus. In epithelialen Gewebe infiltrieren die malignen Zellen typischerweise das Epithel und formen lymphoepitheliale Läsionen. Sie gleichen morphologisch den extranodalen (MALT) oder splenischen Marginalzonenlymphomen, allerdings ohne Auftreten eines Milz- oder extranodalen Befalls.²⁵

Tabelle 17: Auswertung der Marginalzonen-Lymphome

Gewertete Diagnosen:

NHL/Marginalzonenlymphom		47
Falsche Diagnose		5
Richtige Diagnose		39
Falscher Subtyp (eingeschränkt richtig)		3

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Lymphoplasmozytisches Lymphom		1
CLL		2
Normal		1
Hochmalignes Lymphom		1

Präparate von histologisch bestätigten, nodalen Marginalzonenlymphomen wurden insgesamt 47 Mal versendet. In 42 Fällen wurde die richtige Diagnose gestellt. Bei den fünf falschen Fällen wurde das Präparat einmal für ein hochmalignes Lymphom und einmal für ein unauffälliges, normales Präparat gehalten. In drei weiteren Fällen war der Subtyp nicht richtig, was in der klinischen Realität aber keine therapeutische Fehlentscheidung nach sich ziehen wird. Es ergibt sich eine Fehlerrate von 10,6 %.

Chronische lymphatische Leukämie (CLL):

Definition: Bei der chronisch lymphatischen Leukämie handelt es sich um eine Neoplasie mit monomorphen kleinen, runden B-Lymphozyten im peripheren Blut, Knochenmark, Lymphknoten und Milz gemischt mit Prolymphozyten und Paraimmunoblasten (Pseudofollikel), die normalerweise CD 5 und CD 23 exprimieren. Im peripheren Blut sollen $\geq 5 \times 10^9$ /L monoklonale Lymphozyten mit dem typischen

Immunphänotyp nachzuweisen sein. Die Lymphozytose sollte über 3 Monate bestehen. Bei geringerer Lymphozytenzahl, Vorliegen einer Zytopenie und/oder CLL-typischer Symptomatik kann die Diagnose CLL auch gestellt werden. Patienten, bei denen eine monoklonale B-Lymphozytose besteht, aber weniger als 5000 leukämische Zellen pro µl im peripheren Blut zirkulieren und keine Zytopenie durch Knochenmarksinfiltration vorliegt, sollen als SLL (small lymphocytic lymphoma) bezeichnet werden. Die CLL ist die häufigste Leukämie der Erwachsenen in der westlichen Welt. Die Inzidenz liegt bei 2-6 Fällen auf 100.000 Einwohner und steigt mit zunehmendem Alter auf 12,8/100.000 im Alter von 65 Jahren.^{77, 67}

Auswertung: Bei der CLL waren 62 Fälle zu beurteilen. Die richtige Diagnose wurde in 50 Fällen gestellt. Falsch beurteilt waren fünf Präparate, wobei in drei Fällen das Präparat nicht beurteilt worden ist. In einem Fall wurde ein hochmalignes Lymphom diagnostiziert und in einem anderen Fall eine reaktive Lymphozytose angenommen. Ungereimtheiten traten bei etwa sieben Fällen auf, bei denen die Untersucher eine akute myeloische Leukämie statt einer chronisch lymphatischen Leukämie diagnostiziert hatten. Es gab Anzeichen für eine Verwechslung der Präparate. Gleichzeitig sind die beiden Erkrankungen auch zytomorphologisch so unterschiedlich, dass wir eine Fehlbeurteilung für sehr unwahrscheinlich halten. Die Präparate wurden deshalb aus der Bewertung herausgenommen.

Tabelle 18: Auswertung der chronisch lymphatischen Leukämie

Gewertete Diagnosen:

CLL		62 (55*)
Falsche Diagnose		5
Richtige Diagnose		47
Keine Wertung/ Präparateverwechslung		7*
Verdacht auf NHL/CLL		3

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Hochmalignes Lymphom		1
Nicht beurteilbar		3
Reaktive Lymphozytose		1

Die Gesamtfehlerrate bei der CLL liegt also bei 8,1 %, bzw. bei 9,0%, wenn die nicht gewerteten Präparate von der Gesamtzahl der Fälle abgezogen werden.

Haarzell-Leukämie:

Definition: Die Haarzell-Leukämie ist eine indolente Neoplasie, die ebenfalls zu den niedrig-malignen Non-Hodgkin-Lymphomen zählt. Die Zellen der Haarzell-Leukämie sind kleine lymphoiden B-Zellen mit ovalen Nuclei, reichlich Zytoplasma und Zytoplasmaausläufern im Knochenmark, peripheren Blut und der Milz.⁶⁸ Die Haarzell-Leukämie ist selten und macht etwa 2 % der lymphatischen Leukämien aus. Das mittlere Alter der Patienten liegt bei 50 Jahren.³¹ Klinisch besteht immer eine Splenomegalie, Panzytopenie oder eine B-Symptomatik. Eine Punctio sicca des Knochenmarks ist häufig.^{117,116} Eine Haarzellleukämie-Variante mit einer erhöhten Leukozytenzahlen ist von der Haarzell-Leukämie abzugrenzen.³²

Auswertung: Die Haarzell-Leukämie ist eine von den anderen Non-Hodgkin-Lymphomen zu trennende Erkrankung. Die Gesamt-Fehlerrate beträgt 19,0 %. Es zeigt sich bei den Bewertungen eine große Bandbreite an falschen Diagnosen. So finden sich MDS und Malaria mit je einem Fall. Ein Normalbefund, respektive reaktive Veränderungen, wurden sechsmal diagnostiziert.

Lymphoplasmozytische Lymphome und NHL sind diagnostisch nicht so weit von der Haarzellen-Leukämie entfernt, so dass hier nur ein Teilfehler vorliegt. Knochenmarkhistologie und Immunphänotypsierung sind weitgehend obligate Bestandteile der Diagnostik von lymphatischen Neoplasien und führen zur richtigen Diagnose, auch wenn zytologisch-mikroskopisch zunächst ein anderer Subtyp vermutet worden war.

Etwas ungewöhnlich ist der Fall, der von einem Ringversuchsteilnehmer diagnostizierten Malaria. Plasmodien waren sicher nicht nachzuweisen. Bei einem weiteren Teilnehmer wurden die Haarzellen zwar gesehen, letztendlich aber eine Mononukleose diagnostiziert. Meistens wurde das typische Bild eines wenig Markbröckchen enthaltenden Präparates mit einer Infiltration durch lymphatische Zellen durchaus erkannt.

Unter den Teilnehmern befand sich auch ein Pädiater, der aufgrund der Altersstruktur der Patienten mit Haarzell-Leukämie, diese Fälle nicht zu sehen bekommt. Er wurde daher in dieser Auswertung nicht berücksichtigt.

Tabelle 19: Auswertung der Haarzell-Leukämie

Gewertete Diagnosen:

Haarzell-Leukämie		63 (62*)
Falsche Diagnose		12
Richtige Diagnose		38
Entfällt (Pädiater)		1*
Falscher Subtyp (eingeschränkt richtig)		6
Lymphoplasmozytisches Lymphom		4
NHL ohne Differenzierung		2

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Reaktiv/Normal		6
MDS		1
Malaria		1
Mononukleose		1
Nicht beurteilbar		3

Plasmazell-Myelom

Definition: Plasmazell-Myelome resultieren aus einer monoklonalen Expansion von ausgereiften B-Zellen, die physiologischerweise Immunglobuline sezernieren, die im Blut und Urin auftreten können. Die Plasmazell-Neoplasien beinhalten klinisch und prognostisch unterschiedliche Erkrankungen wie Plasmazell-Myelom, solitäres Plasmozytom, primäre Amyloidose, Leicht- und Schwerekettenenerkrankung. Eine niedrige monoklonale Immunglobulin-Sekretion im Blut (MGUS) geht mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines malignen Lymphoms/ Plasmozytoms einher. Die Inzidenz steigt mit dem Alter, kommt bei Kindern nicht, und bei Erwachsenen unter 30 Jahren sehr selten vor. 90 % der Patienten sind über 50 Jahre alt.⁷⁴

Auswertung: In die abschließende Bewertung flossen 209 Fälle ein von ursprünglich 226 Fällen. 17 Fälle der schwächeren Teilnehmer wurden wiederum aus der Auswertung genommen.

Tabelle 20: Auswertung des Plasmozytoms

Gewertete Diagnosen bei Plasmozytom:

Plasmozytom		209
Falsche Diagnose		5
Richtige Diagnose		187
Verdacht auf Plasmozytom		17

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Reaktive Plasmazellvermehrung		2
MGUS		2
V.a. reaktive Veränderungen		1

Bei der Diagnose Plasmozytom zeigt sich ein hohes Maß an richtigen Diagnosen. Nur in drei von 209 Fällen wurden reaktive Veränderungen statt eine Plasmozytoms diagnostiziert. Bei diesem Präparat bestand die Schwierigkeit, dass auf der einen Seite nur wenige Plasmazellen vorhanden waren, auf der anderen Seite diese jedoch zum

großen Teil als hochgradig, atypisch beschrieben werden mussten. Daher sollte an dieser Stelle mindestens ein Verdacht auf Plasmozytom geäußert werden, wie dies von 17 Teilnehmern dann auch tatsächlich beschrieben, und somit als richtig, gewertet wurde. In zwei Fällen wurde nur ein MGUS diagnostiziert, das zwar die geringe Infiltration des Knochenmarks durch die Plasmazellen beschreibt, insbesondere die Atypien der Plasmazellen nicht erfasst und somit die Erkrankung unterschätzt.

3.2.5 Myeloproliferative Neoplasien (MPN)

Definition: Unter myeloproliferativen Neoplasien versteht man eine Reihe von klonalen malignen Erkrankungen der hämatopoetischen Stammzelle, die durch eine Proliferation einer oder mehrerer Zelllinien des Knochenmarks gekennzeichnet sind und meist einen chronischen Verlauf nehmen.¹⁰¹ Die quantitativ wichtigsten Entitäten sind: CML, Polyzythaemia vera, essentielle Thrombozythaemie⁸⁴ und primäre Myelofibrose. Seltener Fälle sind die verschiedenen Arten der Mastozytose.¹⁰⁴

Auswertung Gesamtgruppe: 162 mal wurden Knochenmarkspräparate von Patienten versendet, die an myeloproliferativen Neoplasien erkrankt waren. Zehn Fälle der schlechteren Teilnehmer wurden nicht berücksichtigt. Nochmals zwei Präparate, bei denen die Antworten oder das Präparat nicht zu beurteilen waren, wurden ebenfalls gestrichen.

Tabelle 21: Auswertung der myeloproliferativen Neoplasien

Gewertete Diagnosen:

Myeloproliferative Neoplasien		150
Falsche Diagnose		15
Richtige Diagnosen		135
Essentielle Thrombozythaemie		32
Chronische myeloische Leukämie		34
Polyzythaemia vera		44
MPS nicht näher spezifizierbar		40

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Reaktive Veränderungen		9
V.a. reaktive Veränderungen		1
MDS/CMML		1
Normalbefund		2
Falscher Subtyp		2

Auswertung essentielle Thrombozythämie: Von den 32 Präparaten mit essentieller Thrombozythämie wurden zehn falsch beurteilt (Fehlerrate: 31,3 %). Bei der CML waren alle Diagnosen richtig (Fehlerrate: 0 %), bei der Polyzythaemia 42 richtig und nur zwei falsch (Fehlerrate: 4,8 %), beim myeloproliferativen Syndrom ohne weitere Spezifizierung 15 richtig und drei falsch (Fehlerrate: 20,0 %).

Bei einer essentiellen Thrombozythaemie sieht man oft eine Vermehrung der Megakaryozyten, die auch morphologische Auffälligkeiten aufweisen können. Das Knochenmark kann aber auch unauffällig aussehen.

In einem Fall wurde ein myeloproliferatives Syndrom als sicher ausgeschlossen bezeichnet und stattdessen eine reaktive Thrombozytose oder ein beginnendes MDS diagnostiziert. Ein morphologischer Normalbefund des Knochenmarks ist nicht grundsätzlich falsch, wobei eine anhaltende Thrombozytose $\geq 450 \times \text{Tsd.}/\mu\text{l}$, in der WHO Klassifikation von 2008,^{87,97} die Diagnose einer essentiellen Thrombozythaemie nahelegt. In diesem speziellen Fall war im Knochenmark die Zahl der Megakaryozyten nicht erhöht und trotzdem musste aufgrund der Dauer der Thrombozytose die Diagnose essentielle Thrombozythaemie heißen oder zumindest Verdacht auf ET.

Tabelle 22: Auswertung der essentiellen Thrombozythaemie

Gewertete Diagnosen bei essentieller Thrombozythaemie:

Essentielle Thrombozythaemie		32
Falsche Diagnosen		10
Richtige Diagnose		22

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen bei essentieller Thrombozythaemie:

Reaktive Veränderungen		7
Normalbefund		2
Falscher Subtyp		1

3.2.6 Knochenmarkkarzinose

Definition: Bei der Knochenmarkkarzinose lassen sich im Knochenmark zytologisch oder histologisch Tumorzellen z.B. von Prostatakarzinomen oder Mammakarzinomen nachweisen. Das klinische Bild geht oft mit einer Bi- oder Panzytopenie einher. Zytomorphologisch zeigt sich oft ein leukoerythroblastischen Blutbild. Obwohl es wenig Daten zu der Knochenmarkkarzinose gibt, ist sie nicht selten und kommt häufig bei einer ausgeprägten Tumorlast auf. Bei Brustkrebspatientinnen fand sich eine Inzidenz von 23 % (380 Patientinnen; 87 mit Knochenmarkkarzinose). Mithin ist die Prognose oft schlecht und die Überlebenszeit nach Diagnosestellung kurz.⁵⁷

Auswertung: Von ursprünglich 99 Präparaten wurden 95 Fälle abschließend beurteilt. Hiervon waren 91 richtig diagnostiziert. Falsch waren vier Beurteilungen, wobei sich einmal auf reaktive Veränderungen und einmal auf MDS festgelegt wurde. Einmalig

wurde statt der gewünschten Diagnose je ein Normalbefund und ein M. Hodgkin beschrieben. Als richtig wurde ein Fall beurteilt, bei dem die Kollegen im schriftlichen Befund eher ein Plasmozytom erwogen haben, aber richtigerweise die Knochenmarkkarzinose als Differentialdiagnose in Erwägung gezogen haben. Die Fehlerrate betrug demnach 4,4 %.

Tabelle 23: Auswertungen der Knochenmarkkarzinose

Gewertete Diagnosen:

Knochenmarkkarzinose		95
Falsche Diagnose		4
Richtige Diagnose		91
Verdacht auf Knochenmarkkarzinose		8

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

M. Hodgkin		1
V.a. reaktive Veränderungen		1
V.a. Myelodysplasie		1
V.a. Normalbefund		1

3.2.7 Pure red cell aplasia (PRCA)

Definition: Aplasie der roten Blutkörperchen oder isolierte aplastische Anämie bzw. Erythroblastopenie ist ein Syndrom, das durch Zerstörung oder Fehlen der Erythropoese im Knochenmark entsteht, oft charakterisiert durch eine normozytäre Anämie, eine Retikulozytenerniedrigung und dem Fehlen von Erythroblasten bei sonst normalen Knochenmark. Die PRCA kann angeboren oder erworben sein. Oft sind autoimmune Prozesse die Ursache. Häufig tritt die PRCA im Rahmen anderer Autoimmunerkrankungen (z.B. Lupus erythematoses, Thymome) oder infolge von Viruserkrankungen (z.B. Parvovirus-B19 und HIV) auf.⁹⁰ Im Knochenmark ist sie durch das völlige Fehlen oder eine ausgeprägte Verminderung der Erythropoese gekennzeichnet. Thrombozyten- und Granulozytenreifung im Knochenmark sind ungestört. Im Blut sind Retikulozyten nicht nachzuweisen.⁷⁰

Auswertung: Insgesamt wurden 91 Präparate von Patienten mit isolierter aplastischer Anämie verschickt. Ausgewertet wurden die 88 Antworten der „guten“ Teilnehmer (über 70% der maximal möglichen Punkte erreicht). Insgesamt waren 8 Beurteilungen falsch: dreimal „reaktive Veränderungen“ bzw. Normalbefund, zweimal wurde eine Anämie diagnostiziert, aber ursächlich eine Hämolyse oder eine Tumoranämie vermutet. Aufgrund der relativ gesteigerten Granulopoese nahm ein Teilnehmer an, es handele sich um ein myeloproliferatives Syndrom respektive eine CML. In einem Fall wurde eine Knochenmarkkarzinose vermutet. Die Fehlerrate betrug 10,0 %.

Tabelle 24: Auswertung der PRCA

Gewertete Diagnosen:

Pure red cell aplasia		88
Falsche Diagnose		8
Richtige Diagnose		80
Verdacht auf		12

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Reaktive Veränderungen		1
Tumoranämie		1
Hämolytische Anämie		1
Karzinose		1
V.a. myeloproliferative Erkrankung		1
Myelodysplasie		1
V.a. reaktive Veränderungen		2

3.2.8 Hämolytische Anämie

Definition: Bei hämolytischen Anämien besteht eine verkürzte Überlebenszeit infolge einer gesteigerten Erythrozytendestruktion bei normaler Fähigkeit des Knochenmarks, die Erythropoese kompensatorisch zu steigern. Eine Anämie entsteht dann, wenn der Erythrozytenabbau die Neubildung im Knochenmark übersteigt. Eine gesteigerte Hämolyse muss folglich nicht zwangsläufig mit einer Anämie einhergehen. Pathogenetisch lassen sich hämolytische Anämien unterscheiden in solche, die Zerstörung der Erythrozyten in der freien Blutbahn (intravasal) zustande kommt und solche, bei denen der Abbau der Erythrozyten durch Makrophagen, vornehmlich in der Marginalzone der Milz, erfolgt.⁷⁰

Auswertung: Bei dieser Erkrankung wurden nur Präparate eines Patienten verschickt. Dem Präparat war jeweils ein aktuelles Labor beigelegt. Neben Angaben über klinische Symptomatik und körperlichem Untersuchungsbefund fanden sich hier Hb-Wert, Erythrozytenzahl, Hkt, MCV, MCH, MCHC, Leukozyten- und Thrombozytenzahl, Gesamtbilirubin, LDH, Kalzium. Es erfolgte ein Hinweis, dass Ringsideroblasten in der Eisenfärbung nicht nachweisbar waren. Die Zahl der Retikulozyten wurde nicht angegeben. Ausgewertet wurde eine Gesamtzahl von 36 Beurteilungen. Richtig waren 31 Beurteilungen, fünf waren falsch (s. Tab. 25). Daraus ergibt sich eine Fehlerrate von 13,9 % (s. Abb. 28-31).

Tabelle 25: Auswertung der hämolytischen Anämie

Gewertete Diagnosen:

Hämolyse		36
Falsche Diagnose		5
Richtige Diagnose		31
Verdacht auf		2

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Megaloblastäre Anämie		4
Myelodysplasie		1

Bezüglich der fünf falschen Beurteilungen findet sich in einem Fall eine Myelodysplasie, die restlichen vier Fälle wurden im Sinne einer megaloblastären Anämie befundet. Alle Untersucher fanden die ausgeprägte Polychromasie, so dass die Retikulozytenzahl hoch sein muss. In allen Fällen wurden die Megakaryozyten als auch die Granulopoese als normal beschrieben. Es finden sich allenfalls leichte megaloblastäre Veränderungen, die auf die Erythropoese beschränkt bleiben, als Ausdruck der überstürzt ablaufenden Zell-Neubildung. Riesen-Stabkernige oder Riesen-Metamyelozyten, ebenso wie die typischen hypersegmentierten Megakaryozyten, wurden nicht gesehen. Der Fehler könnte also an einer Überinterpretation der vorliegenden Laborwerte liegen.

3.2.9 Idiopathische Thrombozytopenie (ITP)

Definition: Die idiopathische Thrombozytopenie (ITP) ist eine erworbene immunologisch verursachte, isolierte Thrombozytopenie mit Plättchenwerten im peripheren Blut $< 100 \times \text{Tsd.}/\mu\text{l}$ bei Fehlen anderer Ursachen, die eine Thrombopenie verursachen könnten. Bei der auch Immunthrombozytopenie genannten Erkrankung steht die immunologische Natur der Erkrankung im Vordergrund. Klinisch fehlen oft Blutungen oder sind nur gering ausgeprägt. Die Sicht, dass es sich ausschließlich um eine antikörperinduzierte Plättchendestruktion handelt, wurde in letzter Zeit um die inadäquate Plättchenproduktion und immunologische Effekte durch T-Lymphozyten ergänzt. Die ITP wird anhand des zeitlichen Verlaufs in 1. Neu diagnostizierte 2. Persistierende ITP (3-12 Monaten) und 3. Chronische ITP (>12 Monate) unterteilt.³³ Im Knochenmark findet sich eine normale Granulo- und Erythropoese, eine normale oder erhöhte Megakaryozytenzahl und es fehlen Dysplasiezeichen.¹⁵

Auswertung: Erneut wurden von den 59 verschickten Fällen 8 Fälle der schwächeren Teilnehmer bereits vor der Auswertung ausgeschlossen. Von den 51 Beurteilungen wurde 2 als falsch und 49 richtig beurteilt. Die Gesamtfehlerrate betrug 3,9 %.

Tabelle 26: Auswertung der Immunthrombozytopenie (ITP)

Gewertete Diagnosen:

Idiopathische Thrombopenie		51
Falsche Diagnose		2
Richtige Diagnose		42
Verdacht auf ITP		7

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Myeloproliferation		1
Nicht beurteilbar		1

3.2.10 Normalbefund und monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS)

Definition:

Eine monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz ist eine Plasmazellerkrankung mit einem M-Gradienten < 30 g/l, einem Knochenmarksbefall durch monoklonale Plasmazellen < 10 %. Es fehlen Organmanifestationen wie Hyperkalziämie, Niereninsuffizienz, Anämie oder Knochenläsionen. B-Zell-Lymphoms oder andere Erkrankungen, die ein M-Protein produzieren können nicht nachgewiesen werden. Obwohl ein Klon von Immunglobulin produzierenden Zellen existiert, wird das MGUS zwar als neoplastische nicht aber als maligne betrachtet, kann aber in eine solche Erkrankung übergehen. Unterschieden werden IgM produzierende lymphoplasmocytische Klone und IgG-, IgA- produzierende Plasmazell-Klone. Erstere können in einen M. Waldenström und letztere in ein Plasmozytom übergehen.⁷³

Normalbefunde und MGUS wurden in insgesamt 160 Fälle verschickt, wovon 18 Fälle der schwächeren Teilnehmer nicht gewertet wurden. Es wurden somit 97 eindeutige Normalbefunde und 45 Fälle einer monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz ausgewertet. Hieraus ergibt sich für die Präparate mit Normalbefund eine Fehlerrate von 10,3 % und für die MGUS von 4,4 %.

Tabelle 27: Auswertung der Normalbefunde

Gewertete Diagnosen:

Normalbefunde/MGUS		97
Normalbefunde		62
Falsche Diagnose		10
Richtige Diagnose		52
Verdacht auf M. Hodgkin		2
Verdacht auf Normalbefund		3

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

M. Hodgkin		5
Non-Hodgkin-Lymphom		1
Nicht beurteilbar		3
V.a. Infiltration durch ein Burkitt-Lymphom		1

Bei insgesamt fünf unauffälligen Präparaten wurde eine Infiltration durch einen M. Hodgkin beschrieben. Hierbei handelt es sich um eine sehr seltene Form des Knochenmarksbefalls, der meist ohne den Nachweis von Sternberg-Riesenzellen einhergeht. Wahrscheinlich besteht der Fehler in einer Verwechslung unreifer Megakaryozyten mit Hodgkin-Zellen. Für Irritationen dürfte, der bei dem Patienten vorbekannte M. Hodgkin gesorgt haben. Problematisch ist hierbei die genaue Festlegung. Eine Verdachtsdiagnose (zwei Fälle) führt zu keiner Konsequenz und man hat ausreichend Zeit vor Einleitung einer Therapie das Ergebnis der Histologie des Präparates abzuwarten. Die beiden Verdachtsfälle wurden daher den richtigen Diagnosen zugeordnet. Bei fünf Präparaten wurde allerdings die sichere Diagnose M. Hodgkin gestellt. In einem Fall äußerte der Teilnehmer gar den Verdacht auf eine geringe Infiltration durch ein Burkitt-Lymphom.

Weiterhin finden sich 35 Fälle einer monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS). Hierbei wurden 33 richtige Diagnosen und zwei falsche Diagnosen gestellt.

Hierbei findet sich in einem Fall ein Immunozytom, im anderen Fall eine AML. Ein multiples Myelom wurde in keinem Fall diagnostiziert, obwohl in der Aufgabenstellung die Angabe für die Höhe des Paraproteins fehlte und die WHO-Definition des Plasmazellmyeloms als Grundlage für die Differenzierung den behandelnden Arzt Probleme bereiten kann.

Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS)

Tabelle 28: Auswertung der monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz

Gewertete Diagnosen:

MGUS		35
Falsche Diagnose		2
Richtige Diagnose		33
Verdacht auf MGUS		8

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Immunozytom		1
AML		1

3.2.11 Remissionsstatus bei akuter myeloischer und lymphatischer Leukämie

Definition:

Das Therapieergebnis wird nach den Kriterien der internationalen Konsensuskonferenz kategorisiert.²⁷ In der DGHO-Leitlinie von 2005 wurde z.B. zwischen kompletter Remission (CR), kompletter Remission mit inkompletter hämatopoetischer Regeneration (CRi), partieller Remission (PR), refraktärer Leukämie (RD) und Rezidiv unterschieden.

Die Remissionskriterien folgen inzwischen der MRD-Bestimmung mittels PCR, der in den geltenden Leitlinien entsprechend Rechnung getragen wird.^{40, 41} Leukämiezellen werden im Verhältnis zu den normalen Leukozyten statt in Zytomorphologie bei 1:20 bis runter auf 1:1000-1:10⁶ nachzuweisen sein.⁸²

In den Ringversuchen wurden, entsprechend der DGHO-Leitlinie, die verschiedenen Formen der Therapieergebnisse abgefragt. Neben der Diagnose der nativen AML (s. Kap. 3.2.2), stellt sich die Frage nach Vollremission oder der Leukämiepersistenz nach erfolgter Therapie. Bei ersteren war die Zieldiagnose in den Präparaten des Ringversuches die komplette morphologische Remission, also der Nachweis weniger als 5% Blasten im Knochenmark oder die Persistenz der AML.

Zu dieser Frage wurden an die Teilnehmer insgesamt 231 Präparate verschickt. Zur Frage der Vollremission bei behandelter AML wurden 63, zur AML ohne Remission 25, zur AML M4 Eo 58, und zur Vollremission bei akuter lymphatischer Leukämie 85 Fälle an die Teilnehmer vergeben. Die AML M4 Eo wird gesondert betrachtet, da die Remissionskriterien hier besonderen zytomorphologischen Eigenheiten unterliegen.

Tabelle 29: Auswertung zur Frage der Vollremission bei AML

Gewertete Diagnosen:

VR bei AML		63
Falsche Diagnose		5
Richtige Diagnose		58
Verdacht auf Vollremission		2

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

Reaktive Veränderungen		1
MDS		1
Aplastische Anämie		1
V.a. Rezidiv/Persistenz der AML		1
V.a. reaktive Veränderungen		1

Bei Vorliegen einer Vollremission der therapierten akuten myeloischen Leukämie finden sich 58 richtige Diagnosen und fünf falsche Diagnosen. Definitiv falsch waren Myelodysplasie, aplastische Anämie und insbesondere die Persistenz der AML in allerdings nur einem Fall. Bei reaktiven Veränderungen oder V.a. reaktive Veränderungen wurden zumindest keine Blasten beschrieben, so dass man hier nur von einem relativen Fehler ausgehen kann. In zwei Fällen wurde ein Verdacht auf eine Vollremission ausgesprochen, der aber trotzdem als richtig gewertet wurde. Die Gesamtfehlerrate betrug 7,9 %.

Remissionsstatus bei akuter myeloischer Leukämie vom Typ M4Eo

Das Präparat zum Thema Remission bzw. Rezidiv einer akuten myeloische Leukämie vom Subtyp M4 Eo war wesentlich schwieriger. Eine Vermehrung der Blasten über 5 % lag im zugrundeliegenden Präparat nicht vor. Hier waren eosinophile Vorläuferzellen mit pathologischen Granula zu sehen, die ein frühes Rezidiv ankündigen, obwohl eigentlich formal noch eine vollständige Remission besteht.

Da hiermit eine größere Schwierigkeit verbunden war, wurden die einzelnen Ergebnisse bezüglich der Eosinophilie und der Diagnose von pathologischen eosinophilen Granula nochmals unterschieden (s. Abb.21-23).

Tabelle 30: Auswertung des Remissionsstatus bei AML M4 Eo

Gewertete Diagnosen M4 Eo

AML M4 Eo		58
Falsche Diagnose		4

Richtige Diagnose		54
Verdacht auf		3

Differenzierung nach Eosinophilie und pathologischen Granula

Komplette Remission		54
Eosinophilie		9
Eosinophilie u. pathologischen Granula		10
Keine Eosinophilie o. pathologischen Granula		36

Somit wurde in 54 Fällen richtig erkannt, dass es sich um eine komplette Remission der AML handelt und damit das Ziel der eigentlichen Fragestellung erreicht. In vier Fällen wurde eine falsche Diagnose dokumentiert. Unterscheidet man die Eosinophilie und das Auftreten der pathologischen Eosinophilengranula und interpretiert diese im Sinne eines Frührezidivs, so wird nur noch in zehn von 54 Fällen bzw. nur bei ungefähr jedem fünften Patient, die richtige Diagnose gestellt. Somit zeigt sich eine gewisse fachliche Grenze. Die Gesamtfehlerrate bezogen auf die Zahl der Komplettremissionen betrug 6,9 %.

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen bei AML M4 Eo:

Rezidiv		2
MDS		1
Falscher Subtyp		1

Remissionsstatus bei akuter myeloischer Leukämie ohne Remission

Tabelle 31: Auswertung bei AML ohne Remission

Gewertete Diagnosen:

Falsche Diagnose		1
Richtige Diagnose		24

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

V.a. Vollremission der AML		1
----------------------------	--	---

Bei diesem Präparat war die Remission nicht vollständig, da eine Blasteninfiltration < 5 % nicht erreicht wurde. Nur in einem Fall wird fälschlicherweise von einer Vollremission ausgegangen. 24 Präparate wurden völlig korrekt als partielle Remission aufgefasst. Hieraus ergibt sich eine Fehlerrate von 4,0 %.

Remissionsstatus einer akuten lymphatischen Leukämie

Hier wurden insgesamt 85 Präparate verschickt. Bei den 85 Fällen sind 9 falsche und 76 richtige Diagnosen.

Tabelle 32: Auswertung des Remissionsstatus bei ALL

Gewertete Diagnosen:

Remission bei ALL		85
Falsche Diagnose		9
Richtige Diagnose		76
Verdacht auf		5
Kontrolle empfohlen		7

Als „falsch“ gewertete Beurteilungen:

MDS		1
Rezidiv der ALL		1
V.a Teilremission der ALL		4
V.a. Rezidiv der ALL		3

Die Schwierigkeit des Präparates lag darin, dass die Teilnehmer keinen Zugriff auf die Zytomorphologie der initialen Blastenpopulation hatten. Es fallen zwar vereinzelt Blasten auf, allerdings mit einer beginnenden Granulation, so wie sie häufig im Knochenmark gesehen werden. Bei drei Präparaten wurde der V.a. ein Rezidiv, bei vier nur der V.a. eine Teilremission der ALL gestellt. In einem Fall wurde das Rezidiv als sicher angesehen, in einem weiteren Fall wurden die chemotherapieabhängigen Veränderungen als MDS eingestuft. Die Gesamtfehlerrate betrug 10,6 %.

3.3 Analyse der Ringversuchs-Ergebnisse aus der Perspektive der von den Ringversuchsteilnehmern gestellten Diagnosen

Bei Perspektive 2 wird die Frage gestellt, wie häufig eine von den guten Ringversuchsteilnehmern gestellte Diagnose auch wirklich zutrifft und was sich alternativ noch hinter deren Diagnose verbergen kann.

Die folgende Tabelle zeigt anhand der Gesamtzahl der Ringversuchsdaten und der vom einzelnen Teilnehmer gestellten Diagnose, ob z.B. die Diagnose Myelodysplasie der Vorgabe durch den Ringversuchsleiter entspricht. Im Falle der Diagnose Myelodysplasie war dies in 81,8 % der Präparate tatsächlich der Fall (s. Abb. 8).

Betrachtet man alle untersuchten Diagnosen, so zeigen sich sehr unterschiedliche Ergebnisse (s. Abb. 10). Es findet sich bei Teilnehmer-Diagnosen wie PRCA, ITP, AML

ohne Vollremission oder der AML M3V oder AML M6 eine 100 %ige Wahrscheinlichkeit, dass die gestellte Diagnose auch richtig ist. Bei reaktiven Veränderungen liegt die Trefferquote erstaunlicherweise niedrig mit nur 10,6 %. Hier wurden, statt reaktiver Veränderungen, z.T. ernsthafte Erkrankungen wie PRCA oder MDS übersehen, letztere sogar zu 55,3 %. Daher sollte man bei der Diagnose reaktive Veränderungen immer relativ kritisch sein.

Interessant ist weiterhin, dass z.B. beim MDS die Subtypen sehr unterschiedlich oft erkannt werden (s. Tab.33). Der Prozentsatz steigt bis auf maximal 87,9 % (Typ RAEB) an. Ausnahme bildet das 5q-Minus-Syndrom, mit seinen typischen morphologischen Kriterien mit nur 58,0 %. So muss man sagen, dass wenn eine MDS-Diagnose gestellt wird, das Ergebnis relativ häufig richtig ist. Bei Non-Hodgkin-Lymphomen zeigt sich, wie zu erwarten, eine noch bessere Tendenz, so liegt die Quote bei Diagnosestellung eines Plasmocytoms, einer Haarzell-Leukämie oder einem Non-Hodgkin-Lymphom bei 100%, wobei hier die Immunphänotypisierung für die Bestimmung des entsprechenden Subtyps entscheiden ist. Aus dem Rahmen fällt hier der Knochenmarksbefall durch ein hochmalignes Lymphom. Hier ist die Quote mit 1,25 % sehr niedrig ist (s. Tab.35). Hier besteht aber auch eine sehr geringe Fallzahl mit nur 8 Ringversuchen. Ähnliches gilt naturgemäß bei M4 E0 (14 RV), ALL (11 RV), M2 hypo (13 RV), M6 (18 RV). Das entspricht allerdings auch der geringen Inzidenz in der Normalbevölkerung z.B. der akuten myeloischen Leukämie mit 2,5-3/100000, und davon 5-8 % die inv 16 bzw. einer AML M4 Eo entsprechen.^{4, 103}

Tabelle 33: Quote der richtigen Diagnosestellung bei MDS und MPN

Von den Teilnehmern gestellte Diagnosen	Gesamtzahl der RV	Richtige Diagnosen bzw. die Diagnosen, die richtig gewesen wären	Punktzahl	Richtig %
MDS unspezifisch	22	Richtig Reaktiv Mononukleose Megaloblastäre A.	18 2 1 1	81,8
RAEB	58	Richtig Reaktiv AML CMML NHL PRCA	51 11 3 2 1 1	87,9
5 q minus	31	Richtig Reaktiv Normal Blutungsanämie Plasmocytom Megaloblastäre A.	18 9 1 1 1 1	58,0

RARS	60	Richtig Megaloblastäre A. Blutungsanämie Mononukleose Reaktiv	51 3 1 1 2	85,0
Myeloproliferative Neoplasien:				
PV	64	Richtig Reaktiv	62 2	96,8
MPN nicht klassifizierbar	28	Richtig Reaktiv	26 2	92,8
CML	36	Richtig	36	100
ET	33	Richtig Normal Reaktiv	23 2 8	69,7

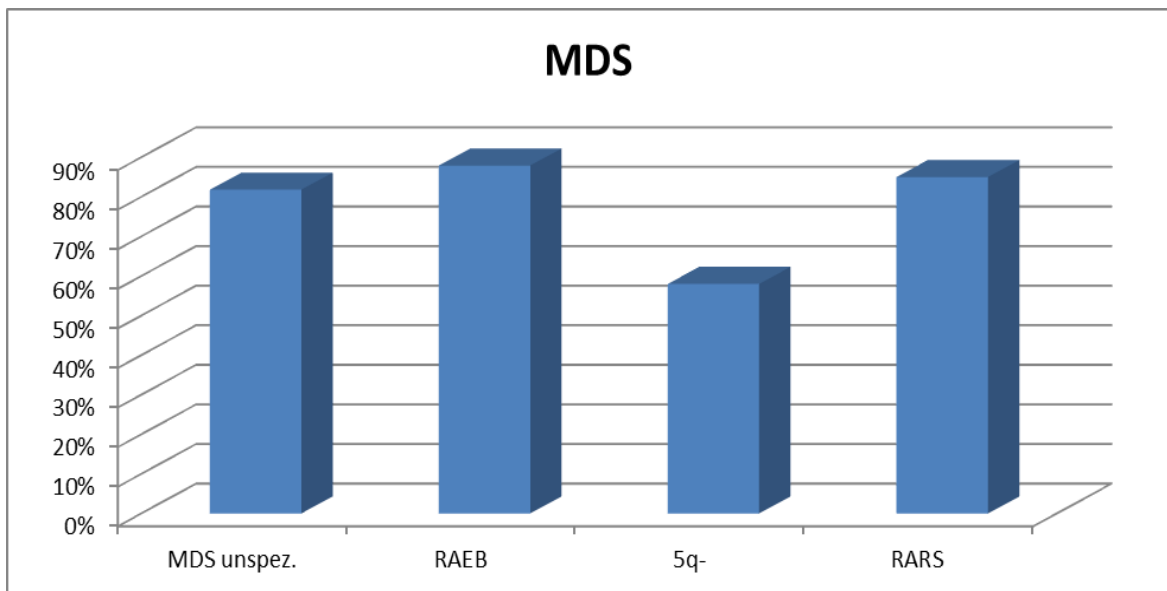


Abbildung 8: Quote richtiger Teilnehmer-Diagnose

Tabelle 34: Quote richtigen Teilnehmer-Diagnosen bei ALL und AML

Von den Teilnehmern gestellte Diagnosen	Gesamtzahl der RV	Richtige Diagnosen bzw. die Diagnosen, die richtig gewesen wären	Punktzahl	Richtig %
AML de novo	52	Richtig ALL RAEB AML VR MGUS	47 1 1 1 2	90,4

M2	41	Richtig ALL AML M3 AML M3V AML M4 CLL 1	36 1 1 1 1	87,8
M2 hypo	13	Richtig	13	100,0
M3	70	Richtig NHL PRCA	68 1 1	97,1
M3V	23	Richtig	23	100,0
M4/ M5	21	Richtig Vollremission	20 1	95,6
M4 Eo	14	Richtig	14	100,0
M4 E0 Vollremission	30	Richtig AML ohne Remission	24 6	80,0
M6	18	Richtig	18	100,0
AML keine Vollremission	17	Richtig	17	100,0
AML in Vollremission	79	Richtig AML ohne VR	78 1	98,7
Rezidiv bzw. nicht erreichte VR	18	Richtig Vollremission AML	11 5 2	61,1
ALL VR	76	Richtig	76	100,0

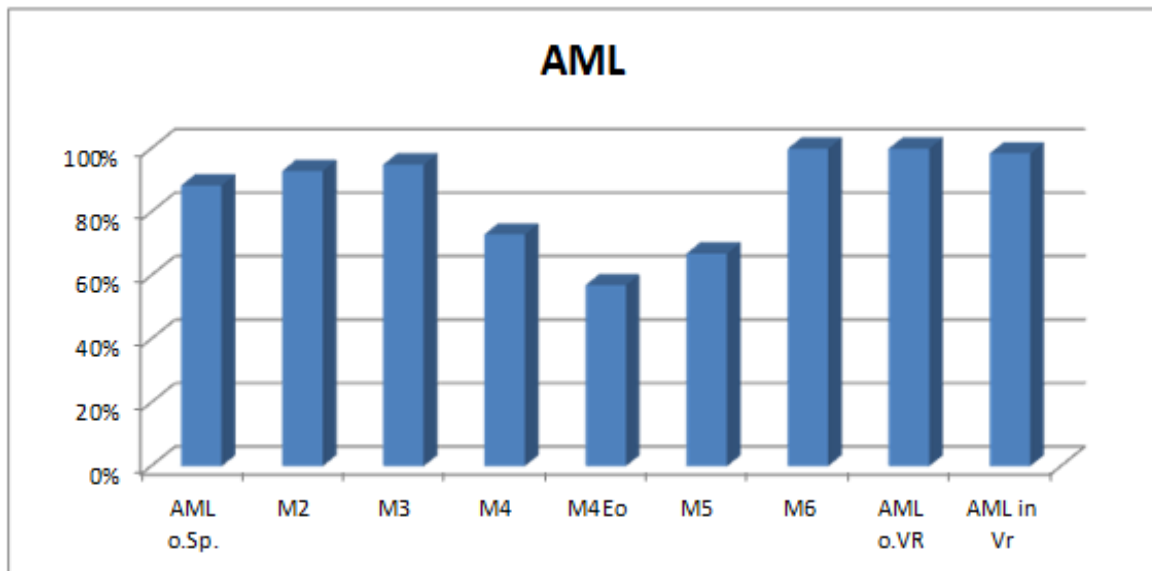


Abbildung 9: Quote richtiger Teilnehmer-Diagnosen

Die Verteilung bei der AML zeigt insgesamt eine relativ hohe Sicherheit (s. Abb. 9), wenn eine entsprechende Diagnose gestellt wird, insbesondere bei der Frage einer kompletten oder nicht kompletten Remission. Auffällig ist die Unsicherheit bei den akuten myelo-monozytären Leukämieformen AML M4, M4Eo und M5 (s. Tab. FAB-Klassifikation Tab.40). Für die AML M4 Eo besteht mit der inv16 allerdings eine typische zytogenetische Veränderung.⁶⁶

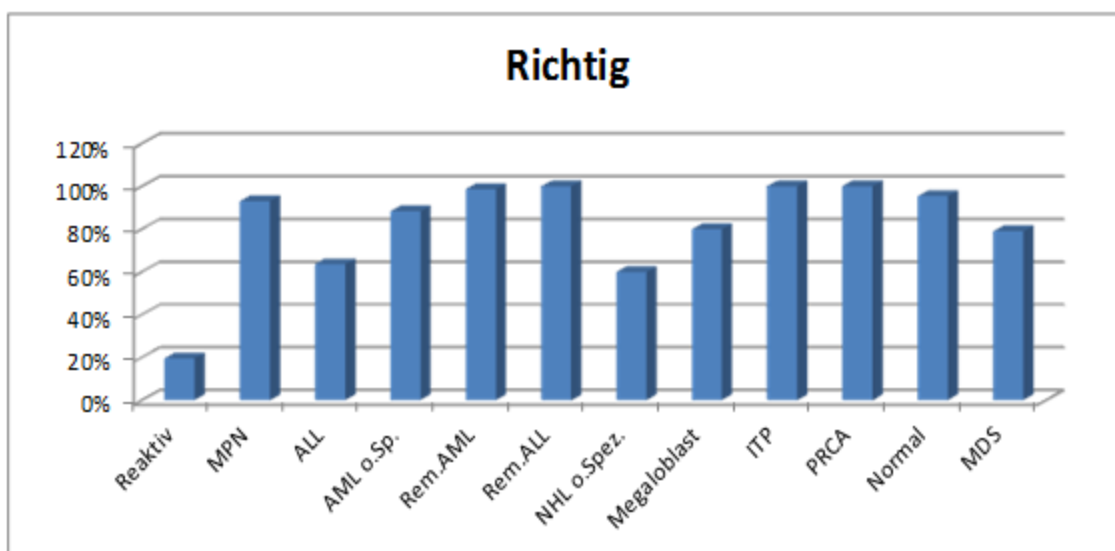


Abbildung 10: Quote/Verteilung der richtigen Teilnehmer-Diagnosen

Tabelle 35: Quote der richtigen Teilnehmer-Diagnosen bei B-Zell-Lymphomen

Von den Teilnehmern gestellte Diagnosen	Gesamtzahl der RV	Richtige Diagnosen bzw. die Diagnosen, die richtig gewesen wären	Punktzahl	Richtig %
---	-------------------	--	-----------	-----------

Chronische lymphatische Leukämie	65	Richtig Hochmalignes Lymphom AML * Nicht beurteilbar*	53 1 6 5	81,5
NHL unspezifiziert	27	Richtig HZL ** Marginalzonenlymph. ** CLL **	27 9 10 8	100
Nodales Marginalzonen-lymphom	48	Richtig Plasmocytom Karzinose	46 1 1	95,8
Befall des KM durch aggressives Lymphom oder Morbus Hodgkin	8	Richtig CLL MNT Normalbefund	1 1 1 6	1,25
Haarzellen-Leukämie	40	Richtig NHL ohne Subtyp**	40 4	100
Plasmozytom	210	Richtig	210	100

*Aus der Bewertung ausgeschlossen wegen einer Verwechslung der Präparate

** Eng verwandte Subtypen wurden nicht als falsch bewertet

Tabelle 36: Quote der richtigen Teilnehmer-Diagnosen bei Knochenmarkskarzinose, verschiedenen Anämien, idiopathischer Thrombozytopenie und Normalbefunden

Von den Teilnehmern gestellte Diagnosen	Gesamtzahl der RV	Richtige Diagnosen bzw. die Diagnosen, die richtig gewesen wären	Punktzahl	Richtig %
Knochenmarkskarzinose	97	Richtig PRCA Plasmocytom	94 2 1	96,9
Hämolytische Anämie	32	Richtig PRCA	32 1	96,9
Megaloblastäre Anämie	42	Richtig 5qminus RARS RAEB PRCA	37 1 2 1 1	88,1
ITP	53	Richtig	53	100
Pure red cell aplasia	84	Richtig AML VR	83 1	100

Normalbefund/MGUS	149	Richtig AML M4 ET Carcinose HZL NHL Plasmocytom MDS	138 1 2 1 2 1 3 1	92,6
Reaktive Veränderungen	47	Richtig MDS ET Carcinose HZL MPN PRCA	5 26 3 1 5 3 4	10,6

4. Diskussion

Ein bedeutsamer Teil der täglichen Diagnostik, bei Verdacht auf Vorliegen einer hämatologischen Systemerkrankung, wird durch die Zytomorphologie von Blutausstrichen und Knochenmarksaspiraten bestimmt. Diese Aufgabe obliegt verschiedensten Fachrichtungen wie Labormedizinern, Pathologen, hämatologisch tätigen Pädiatern und nicht zuletzt Internisten mit Schwerpunktsbezeichnung Hämato-/Onkologie. Die angestrebten Diagnosen sind für den Patienten oft schwerwiegend und von teils vitaler Bedeutung, so dass regelmäßige Ringversuche zur Ergebnisqualität ein wichtiges Werkzeug zur Überprüfung und Verbesserung der eigenen Fähigkeiten und zu Ausbildungszwecken sind.

Möchte man die Ergebnisse der Ringversuche in der mikroskopischen Diagnostik hämatologischer Fragestellungen mit der aktuellen Literatur abgleichen, so finden sich nur sehr wenige Literaturstellen und noch weniger relevante Publikationen, die meistens nicht den Weg in höherrangige Zeitschriften finden. In Tabelle 38 (s. Kap.7.4) sind unter dem entsprechenden Suchbegriff die Zahl der gesamten Abstracts und die Zahl der themenbezogenen Publikationen aufgeführt, wobei sich aber erhebliche Überschneidungen zwischen den Suchergebnissen ergaben. Letztendlich sind nur wenig relevante Veröffentlichungen über den Zeitraum von 1960 bis 2014 zum Thema Qualität und Fehler-Ermittlung in der hämatologischen Zytologie erschienen. Vergleicht man die Zahlen der Veröffentlichungen z.B. mit der ungefähren Zahl der Publikationen zum Thema „Qualität in der Durchflusszytometrie“, so erstaunt der deutliche Unterschied. In der kurzen Übersicht über die aktuellen Abstracts im Zeitraum von 01.01.2000 bis 31.12.2014 finden sich 85 Veröffentlichungen, die sich mit der Qualität, Arbeitsprozessen, Weiterbildung und Zukunft der Durchflusszytometrie in der Hämatologie beschäftigen.¹¹⁸ Ein Grund mag die leichtere Vergleichbarkeit von Standards in der medizinischen Gerätetechnik sein, da der subjektive Eindruck wie in der Zytomorphologie nur schwer überprüfbar ist.

4.1 Einführung in das Thema/ Fragestellung

Das Ziel dieser Ringversuche und der daran Teilnehmenden, ist es diagnostische Schwierigkeiten in der zytomorphologischen Beurteilung von teils komplexen hämatologischen Erkrankungen zu erkennen, und neben der Fehleranalyse insbesondere Fortbildungsschwerpunkte herauszuarbeiten, aber auch Lösungsansätze anzubieten.

Für die Fehleranalyse wurden die Ringversuchsteilnehmer in eine Gruppe der besseren und erfahreneren und in die der weniger geübten Teilnehmer eingeteilt, um eine zu starke Verzerrung der Daten möglichst zu vermeiden. Als ungeübtere Gruppe wurden die Einrichtungen klassifiziert, die bei ihren Ringversuchsteilnahmen im Mittel weniger als 70% der maximal möglichen Punkte erreicht hatten. Grund ist u.a., dass die Fehler der weniger erfahrenen Teilnehmer auf einer Vielzahl von Problemen beruhen können. Fehler, die selbst den erfahrenen Zytomorphologen unterlaufen, bedürfen naturgemäß besonderer Aufmerksamkeit, Diskussion und Schulung.

Jedem versandten Fall war vom Ringversuchsleiter ein Schwierigkeitsgrad zugeordnet. Fälle mit dem Schwierigkeitsgrad 1 sollten von den Teilnehmern unbedingt richtig beurteilt werden. Sie entsprachen Fällen, bei denen auch Kollegen, die sonst nicht mikroskopisch tätig sind, die Diagnose hätten stellen können. Grad 2 Fälle waren vom Ringversuchsleiter als ebenfalls recht einfach eingestuft. Die Diagnosestellung sollte jedem regelmäßig Mikroskopierenden problemlos möglich sein. Bei Grad-3/4-Fällen waren Fehler erwartet worden, sie sollten aber von erfahrenen Zytomorphologen ohne weiteres korrekt beurteilt werden können. Die abschließende Bewertung orientiert sich auch an der klinischen Konsequenz und Relevanz und zielt nicht auf zytomorphologisches Spezialwissen sehr seltener Erkrankungen. So wurde bei einem Präparat der PRCA die zusätzlich vorliegende LGL-Leukämie nicht in die Beurteilung mit einbezogen.

Zu Beginn eines solchen Ringversuches steht also eine differenzierte Fehlerdefinition, die im Fall der mikroskopischen Diagnostik durch eine Fülle von subjektiven Einflüssen erschwert wird.

1. Übersehene Diagnose
2. Überschätztes (Überreiztes) Präparat: Hier wird statt einer vergleichsweise harmlosen, gut behandelbaren Erkrankung, eine hämatologische Neoplasie diagnostiziert (Bsp.: Myelodysplasie bei Vitamin-B12-Mangel).
3. Der Teilnehmer hält ein Präparat für technisch nicht auswertbar, übersieht dabei aber die Natur der Erkrankung, wie z.B. im Falle der Haarzell-Leukämie.
4. Fehler durch Festlegungsschwäche des Untersuchers (Bsp.: Verdacht auf Plasmozytom bei eindeutigem Befund)
5. Fehler durch unsicheren Untersucher, der immer eine malignen Erkrankung vermutet, und somit unnötige weitere Untersuchungsschritte veranlasst bzw. eine sichere Diagnosestellung verhindert. (Bsp.: Bei normalem Knochenmark

wird über das eventuelle Vorliegen eines MDS diskutiert oder ein Lymphom könne nicht ausgeschlossen werden)

Im Rahmen diese Analyse konnten nur die Fehlertypen 1-3 klar herausgearbeitet werden, während die Fehlertypen 4 und 5 hier als korrekte Beurteilungen gewertet wurden, da eine sinnvolle, objektive Differenzierung dieser sehr subjektiven Fehler nicht möglich ist.

Die Bewertung der Fehler bezieht sich ausschließlich auf zytomorphologische Fragestellungen. Histologische oder zytogenetische Zusatzinformationen wurden der Aufgabenstellung nicht hinzugefügt. Klinische Daten wurden nur in geringem Maße den einzelnen Präparaten beigelegt (s. Beispiel Auswertungsbogen im Anhang). So fehlten z.B. Angaben zur LDH-Höhe bei megaloblastärer Anämie oder die Retikulozytenzahl bei der hämolytischen Anämie. Retikulozyten sind allerdings Teil des zytologischen Befundes und somit auch Teil der Beurteilung durch den Teilnehmer.

Folgende Fehlerquoten in Abhängigkeit vom definierten Schwierigkeitsgrad wurden beobachtet (s.Tab. 37):

Grad 1:	2,4 % (eingeschränkte Beurteilbarkeit; nur ein einziger Fall)
Grad 2:	0,0 % (AML ohne Remission) bis 33,3 % (MDS vom Typ RAEB 1) Mittelwert: 6,4 %
Grad 3:	0,0 % (MDS vom Typ RCMD) bis 35,9 % (MDS vom Typ RAEB 2) Mittelwert: 13,3 %
Grad 4:	4,4 % (Knochenmarkkarzinose) bis 19,4 % (Haarzell-Leukämie) Mittelwert: 10,9 % (nur drei Fälle)

Die untersuchten Diagnosen überschneiden sich über Schweregrade 2 und 3. So findet sich Myelodysplasien abhängig vom jeweiligen Schweregrad des Präparates sowohl unter Schweregrad 2 und 3.

Hieraus ergibt sich, dass die Daten zur Fehlerquote in Abhängigkeit vom festgelegten Schwierigkeitsgrad vom Ringversuchsleiter befriedigend vorhersehbar waren. Zur Beurteilung der Schweregrade 1 und 4 fehlen allerdings ausreichende Fälle. Sinnvoll wäre die fehlerfreien Präparate wie z.B. die Diagnose AML Typ M3 unter Schweregrad 1, oder die Fälle mit einer Fehlerquote über 20 % (MDS vom Typ RAEB) dem Schweregrad 4 zuzuordnen (s.Tab.37).

Versucht man die Daten weiter zusammenzufassen, so könnte man also vier Erkrankungsgruppe bzw. Schwierigkeitsgrade festlegen. Auf der Basis dieser Auswertung ergibt sich ein klar strukturiertes Bild der Schwierigkeitsgrade für die mikroskopische Knochenmarksdiagnostik, wie in folgender Tabelle dargestellt.

Tabelle 37: Schwierigkeitsgrade anhand der Ergebnisdaten aus den Ringversuchen

Gruppe/Schwierigkeitsgrad	Fehlergrad %	Erkrankungen
Niedrig	bis 5 %	RCMD (geringe Fallzahl), Plasmazell-Myelom, Knochenmarkkarzinose, ITP, AML ohne Remission
Mittelgradig	5 bis ≤ 10 %	VR bei AML, CLL, PRCA, Myeloproliferative Syndrome Remissionsstatus AML M4 Eo, monoklonale Gammopathien
Hochgradig	> 10 bis ≤ 20 %	Hämolytische und megaloblastäre Anämien, Myelodysplastische Syndrome vom Typ RARS, , Remissionsstatus bei akuter lymphatischer Leukämie, Normales Knochenmark, nodales Marginalzonenlymphom, Haarzell-Leukämie
Höchstgradig	> 20 %	Myelodysplastische Syndrome, Frührezidiv bei AML M4 Eo,

4.2 Fehleranalyse für die einzelnen Erkrankungen: Myelodysplastische Syndrome

Bei myelodysplastischen Syndromen fanden sich mit Abstand die höchsten Fehlerraten. Hohe Fehlerquoten traten insbesondere bei der refraktären Anämie mit Ringsideroblasten (RARS), der Myelodysplasie vom Typ 5q-Minus und der refraktären Anämie mit Blastenexzess auf. Schwierigkeiten bestanden insbesondere bei der Beurteilung von Megakaryozyten. So wurde der dysplastische Charakter z.B. das Auftreten von kleinen Einzelkernen und Fehlen der typischen Segmentierung nicht erkannt. Blasten wurde immer wieder übersehen oder es wurde der Infiltrationsgrad falsch eingeschätzt. In einem Fall wurde statt einer refraktären Anämie mit Blastenexzess, ein 5q-Minus-Syndrom diagnostiziert. In dem Präparat war der Blastenanteil deutlich erhöht, somit lag nicht das prognostisch günstige 5q-Minus-Syndrom, sondern ein RAEB II vor (s. Abb. 11-14). In einem anderen Fall wurde eine Myelodysplasie mit einem Plasmazytom verwechselt, wobei die dysplastischen Megakaryozyten nicht gesehen wurden, aber auch Atypien der Plasmazellen naturgemäß nicht nachzuweisen waren.

Die Beurteilung der Erythropoese ist schwierig. Typischerweise gibt es einerseits Erythroblasten, die aussehen wie bei megaloblastärer Anämie und Veränderungen, die denen bei Eisenmangel ähneln. Dieses Nebeneinander von leichten megaloblastären

Kernveränderungen der Erythropoese und zytoplasmatischen Ausreifungsstörungen ist typisch für eine Myelodysplasie. Dysplasiezeichen der Granulozyten, wie Hypogranulation oder verminderte Kernsegmentation, wurden gelegentlich von Teilnehmern gesehen, obwohl dieses Phänomen nur an dicken Präparatestellen zu verzeichnen war und Ausdruck der nichtoptimalen Färbung an den entsprechenden Stellen war (s. Abb. 15).

Speziell das 5q-Minus-MDS wurde in der Vergangenheit gerne übersehen. Üblicherweise übersieht man die typischen Megakaryozyten mit unsegmentierten Kernen, wenn man zu früh in die größte Vergrößerung wechselt, statt länger mit dem 10er-Objektiv zu mikroskopieren. In dieser Vergrößerung findet man leichter die unsegmentierten bzw. angedeutet segmentierte Megakaryozytenkerne als Zeichen der Dysplasie (s. Abb.13,14). Innerhalb dieses Ringversuches zeigte sich noch eine relativ hohe Fehlerquote mit 34,6 %. Inzwischen hat dieser Subtyp des myelodysplastischen Syndroms, aufgrund eines gut wirksamen Medikamentes und entsprechend fokussierter Fortbildungen an Bedeutung zugenommen, so dass die Fehlerquote, wenn überhaupt, deutlich niedriger liegen wird.³

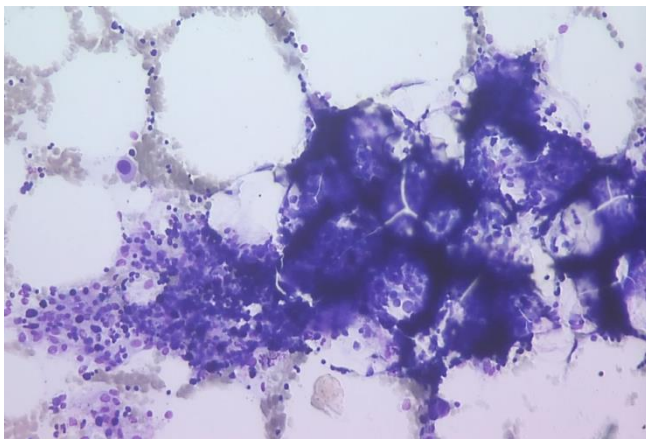


Abbildung 11: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Knochenmarkübersicht

Die Diagnose wurde hier von einigen verpasst, weil der Zellgehalt nicht so gesteigert ist, wie es oft bei anderen MDS-Fällen zu sehen ist. Mit dem 10er-Objektiv sieht das Knochenmark normal aus bis auf den Megakaryozyten mit unsegmentiertem Kern bei 10 Uhr.

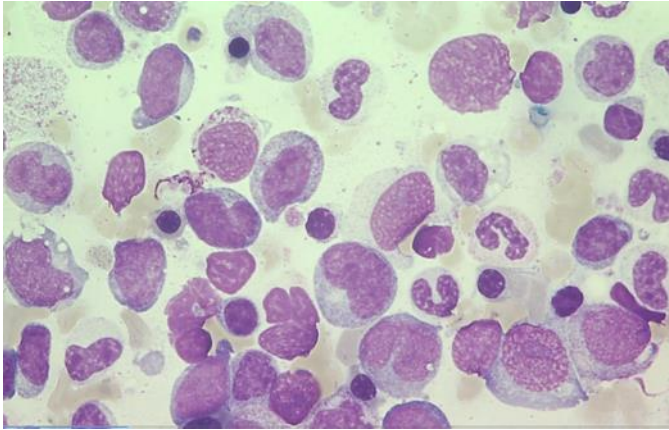


Abbildung 12: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Blasteninfiltration

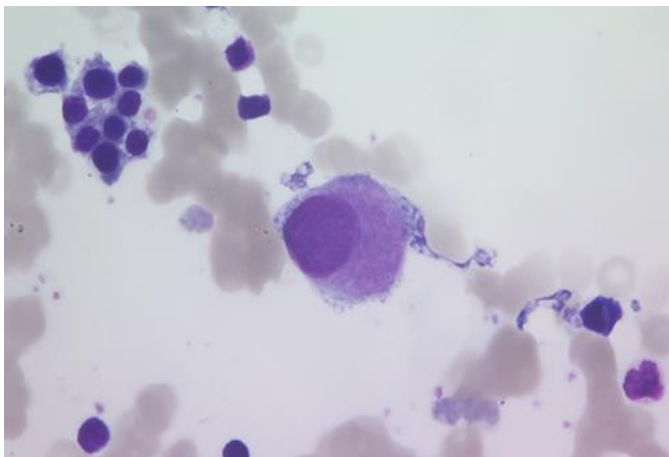


Abbildung 13: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Typischer Megakaryozyt

Ein weiterer Megakaryozyt mit für MDS typischem relativ kleinem unsegmentierten Kern und reifem Zytoplasma (63er Objektiv). Wenn man zwei Megakaryozyten mit diesem Kerntyp auf einem Objektträger findet, ist dies höchst verdächtig für das Vorliegen eines MDS. Daneben eine Gruppe von Erythroblasten mit schmalen, zerzaust wirkendem, schmalen Zytoplasma, wie man es bei Eisenmangel beobachten kann. Hier ist es Ausdruck der Dysplasie.

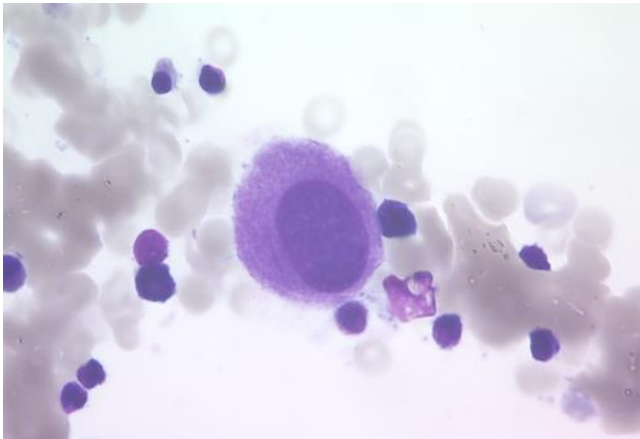


Abbildung 14: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Megakaryozyt mit unsegmentiertem Kern

Ein Megakaryozyt mit für eine Myelodysplasie typischem unsegmentiertem Kern, hier jedoch keine Myelodysplasie vom Typ 5q-Minus, sondern eine refraktäre Anämie mit Blastenexzess (RAEB II) aufgrund des Blastengehaltes. (63er Objektiv)

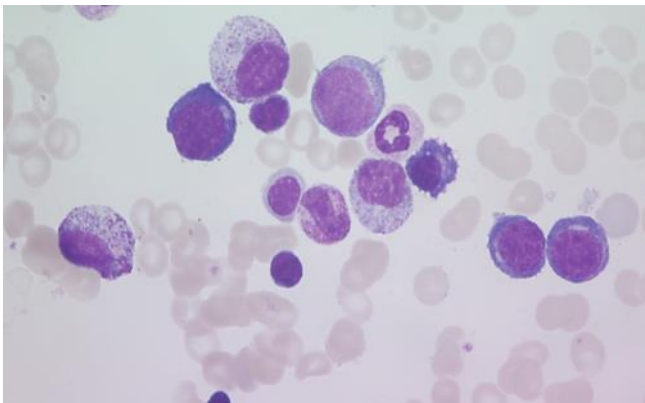


Abbildung 15: Myelodysplasie vom Typ RAEB II: Unklare Dysplasie

Diese Stelle zeigt die Schwierigkeit des Präparates. Keine der hier zu sehenden Zellen hat klar beweisende dysplastische Eigenschaften. Man sieht drei Erythroblasten (zwei bei 3 Uhr, einer bei 11 Uhr) mit höchstens angedeuteter megaloblastärer Morphologie. Der Blast bei 12 Uhr beweist für sich allein genommen nichts.

Akute myeloische Leukämie:

Bei der Diagnose der akuten myeloischen Leukämien zeigten sich folgende Probleme, so ist die Verwechslung der Subtypen zwischen AML M3 (s. Abb. 16-19) und M4 sehr häufig. Monozyten haben in der Regel eine feine, nicht besonders dichte Azurgranulation. Jedes einzelne Granulum ist von einem etwas helleren Hof umgeben. Im Gegensatz dazu steht die sehr dichte, filzige staubfeine Granulation der M3-Blasten. An besonders dünnen Stellen am Rand des Präparates finden sich oft bereits zerstörte Zellen mit frei liegenden Auerstäbchen (s. Abb. 20). Bei diesem Fall fehlte allerdings die Esterasefärbung, die im normalen Alltag natürlich zur richtigen Diagnose führen würde.

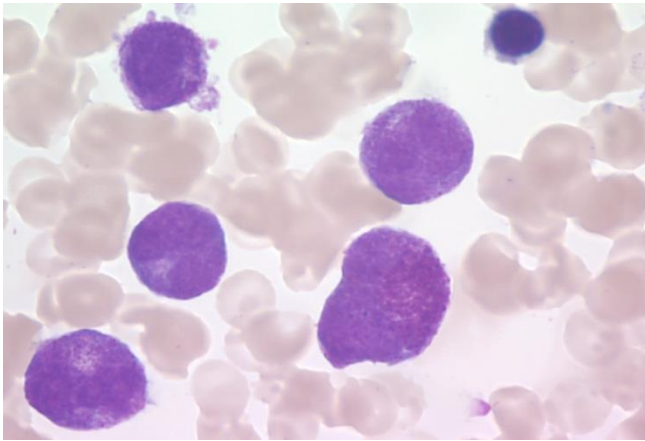


Abbildung 16: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3

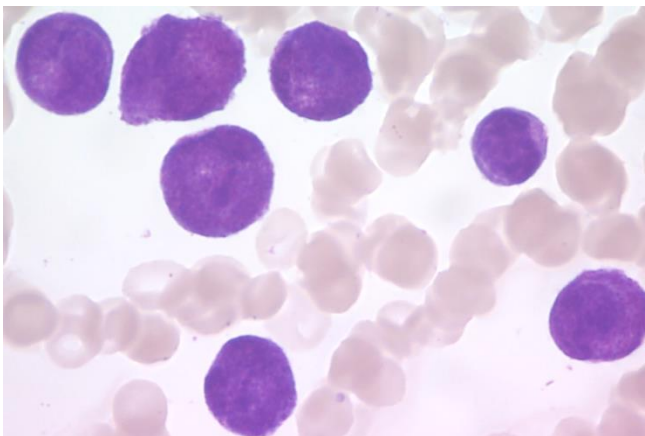


Abbildung 17: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3

Die Schwierigkeiten mit der Erkennung des AML-Typs M3 liegen oft daran, dass an falschen Stellen mikroskopiert wird. An dieser etwas zu dicken Stelle des Ausstrichs sieht man fast nur bunte Kleckse mit nur schwer erkennbarer Struktur. Die dichte Granulation dieses Leukämietyps verdeckt den Kern und damit die Blastennatur der Zelle. (63er Objektiv).

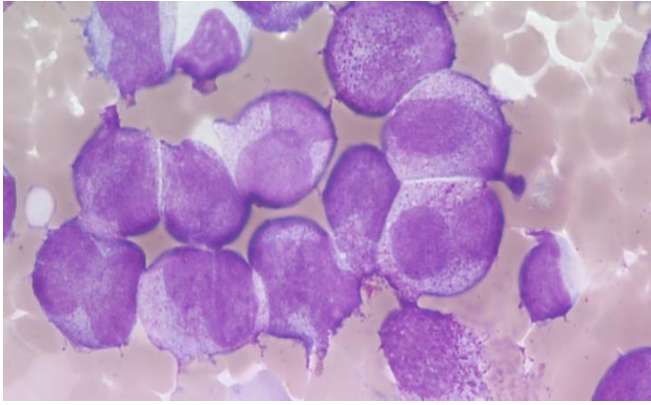


Abbildung 18: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3: Blastäre Natur der Zellen

An dieser Stelle des gleichen Objektträgers, wo sich die Zellen besser ausgebreitet haben, wird die blastäre Natur der Zellen und die Granulation deutlich besser sichtbar. Viele der atypischen Promyelozyten haben segmentierte Kerne bzw. tief eingeschnürte Kerne. Die gelappten Kerne erinnern an Zellen der AML M3V.

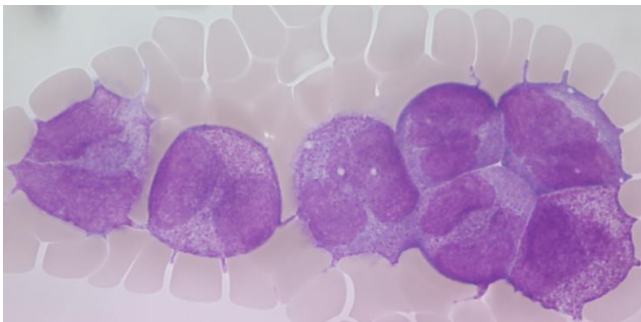


Abbildung 19: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3: Granulierten atypischen Promyelozyten

Typisches Knochenmark mit stark granulierten atypischen Promyelozyten (63er Objektiv).

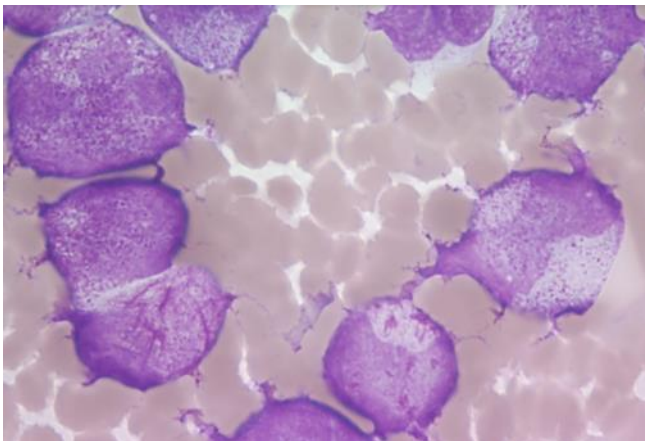


Abbildung 20: Akute myeloische Leukämie vom Typ M3: Fagott-Zellen

Typische blastäre Zellen (8 Uhr) einer AML M3 angefüllt mit Auerstäbchen (Faggott-Zellen = Reisigbündel) (63er Objektiv). Granula und Auer-Stäbchen könne zusammen auftreten. Auer-Stäbchen auch ohne Granula.

Beginnendes Rezidiv der akuten myeloischen Leukämie vom Typ M4 Eo

Bei der akuten myeloischen Leukämie vom Typ M4 Eo haben viele Teilnehmer das Fehlen der Blasten und somit das Ziel der Fragestellung richtig beantwortet (s. Abb. 21,22). Die bestehende Eosinophilenvermehrung wurde in immerhin 32,8 % herausgearbeitet. Allerdings wurde das beginnende Rezidiv, anhand der pathologische Granula der eosinophilen Metamyelozyten und Stabkernigen erkennbar (s. Abb. 23), nur noch in 17,2 % der Fälle von Teilnehmern diagnostiziert.

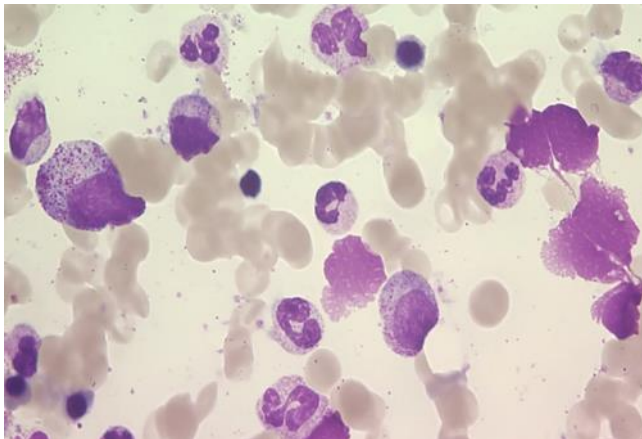


Abbildung 21: Akute myeloische Leukämie vom Typ M4 Eo: Komplette Remission

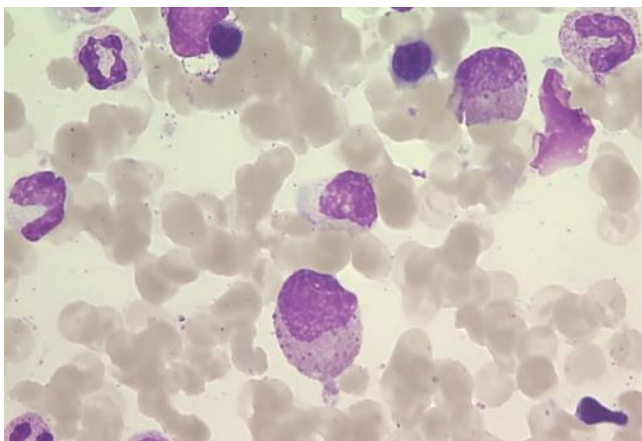


Abbildung 22: Akute myeloische Leukämie vom Typ M4 Eo: Komplette Remission

Knochenmarksausstrich eines Patienten mit AML M4Eo nach vorausgegangener Chemotherapie, durch die eine Vollremission erreicht worden war. Diese Punktion erfolgte zum Ausschluss eines Rezidivs. Die Blasten der bekannten AML sind nicht mehr nachweisbar, insofern besteht eine komplette Remission. Die pathologischen eosinophilen Granula sind hier nur sehr schwach zu erkennen.

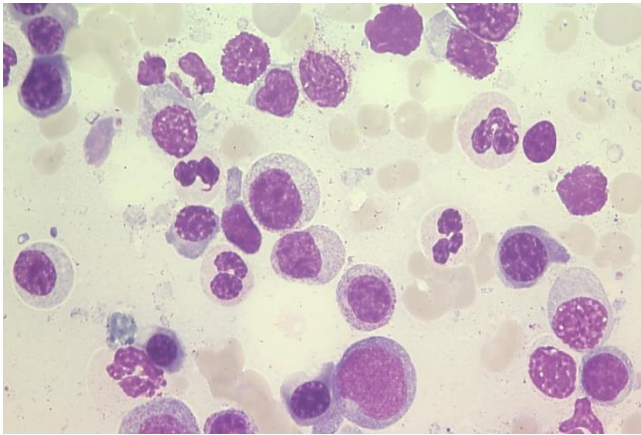


Abbildung 23: Akute myeloische Leukämie vom Typ M4 Eo: V.a. Rezidiv

Aber: Man sieht eine Vermehrung der Eosinophilen. Es finden sich auch einzelne pathologische Eosinophile (bei 1 Uhr und 6 Uhr) mit dicken, basophilen, pathologischen Granula. Solche Granula dürfte man bei einem physiologischen Eosinophilen auf Stufe des Promyelozyten finden, jedoch nicht bei eosinophilen Metamyelozyten und Stabkernigen. Somit besteht der hochgradige Verdacht auf eine Rezidiv-Situation.

Megaloblastäre Anämie

Bei der megaloblastären Anämie ist das Knochenmark extrem zellreich (s. Abb. 24) ähnlich wie bei einer hämatologischen Neoplasie. Die Erythropoese ist sehr stark gesteigert und zeigt extreme Ausreifungsstörungen. Es finden sich Kernabsprengungen, atypische Kernformen, unrunde Kerne. Unreifere Erythroblasten haben ein sehr basophiles Zytoplasma und ein sehr lockeres Kernchromatin (s. Abb. 26). In der Granulopoese sind Veränderungen wie Riesenmetamyelozyten zu beobachten.⁶⁶ Klassische dysplastische Veränderungen wie eine Verminderung der Granulation oder der Kernsegmentation wie bei der Myelodysplasie lassen sich aber nicht nachweisen (s. Abb. 25). Erythroblasten enthalten oft stark Eisengranula, so dass auch hier eine Verwechslung möglich ist.

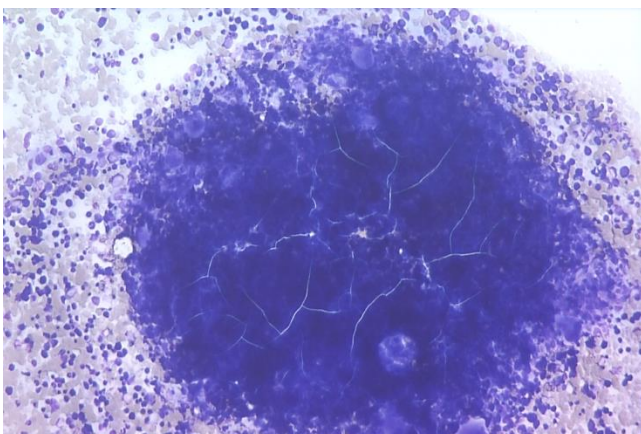


Abbildung 24: Megaloblastäre Anämie

Dieses Knochenmark-Bröckel ist extrem zellreich, wie man es bei einer hämatologischen Neoplasie erwarten kann – aber auch bei einer Hämolyse oder bei megaloblastärer Anämie (10er Objektiv)

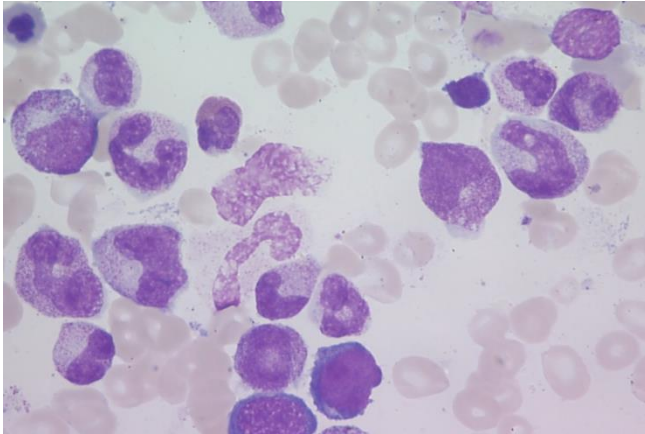


Abbildung 25: Megaloblastäre Anämie: Riesen-Metamyelozyten-Stabkernige

Die megaloblastäre Natur dieses Knochenmarks ist durch keine quantitative Analyse zu erkennen. Schon allein die beiden Riesen-Metamyelozyten (bei 2 und 8 Uhr) sowie die beiden Riesen-Stabkernigen (bei 8 und 10 Uhr) sind schon ein fast sicherer Beleg für die megaloblastäre Natur dieses Knochenmarks. Sie sprechen sehr stark gegen das Vorliegen einer Myelodysplasie. (63er Objektiv)

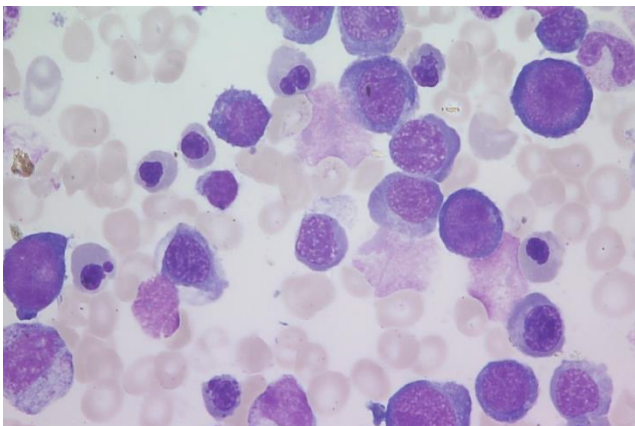


Abbildung 26: Megaloblastäre Anämie: Erythroblasten

An dieser Stelle stehen die Erythroblasten ganz im Vordergrund. Die etwas unreiferen Erythroblasten zeigen ein intensiv-basophiles Zytoplasma und eine lockere Kernstruktur. Daneben sieht man viele reifere Zellformen, die sich durch pathologische Kernformen auszeichnen: Die Kerne dieser reiferen Erythroblasten sind unrund, gelappt oder haben fast abgeschnürte Teile. Auch Absprengungen von Kernteilen kommen vor. Die von recht vielen nicht gekannte Grundregel lautet: Je abstruser die Erythropoese aussieht, desto unwahrscheinlicher wird ist die Diagnose Myelodysplasie (63er Objektiv)³⁴

Haarzell-Leukämie

Bei der Haarzell-Leukämie ist die Diagnose ist nicht einfach zu stellen und wurde oft nicht erkannt. Zur biologischen Eigenart der Erkrankung gehört es, dass meistens nur sehr wenig Knochenmark entnommen werden kann, und somit die Präparate sehr zellarm wirken. Klinisch besteht oft eine Panzytopenie. Meist lassen sich auffällige lymphatische Zellen mit weitem Zytoplasmasaum in den dünnen Ausstricharealen, die anders nicht zugeordnet werden können, nachweisen (s. Abb. 27). In den dickeren Arealen, wo die Erythrozyten dicht zusammen liegen, kann die typische Morphologie der „Haarzellen“ besser dokumentiert werden.^{116, 117}

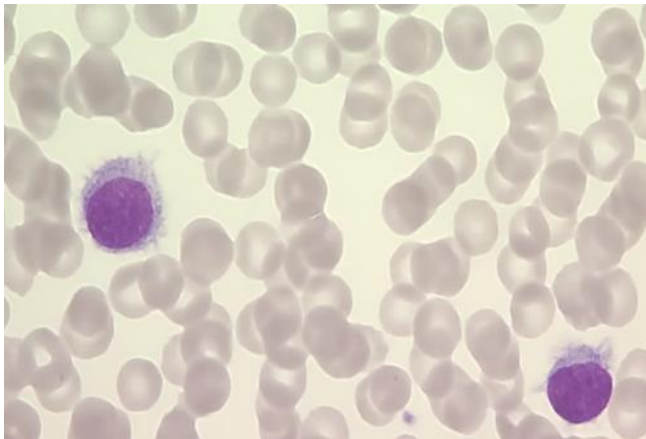


Abbildung 27: Haarzell-Leukämie

Hierbei beklagten viele Teilnehmer zellarme, schlecht beurteilbare Präparate, die aber nur das typische Bild der Erkrankung wiedergeben. Die primär atypischen lymphatischen Zellen sind dadurch gekennzeichnet, dass sie in einem dünn ausgestrichenen Areal oft durch ein weit ausgebreitetes Zytoplasma mit angedeuteter Vakuolisierung auffallen, ohne dass Zytoplasmafortsätze erkennbar sind. Der Kern dieser Zellen zeigt eine eigenartige Chromatinstruktur. Das Chromatin ist deutlich lockerer als bei einer CLL. Mikroskopiert man an einer Stelle, an der die Erythrozyten dichter liegen, kommt es zu dem typischen Aussehen der Haarzellen.

Plasmazell-Myelom

Quantitative Probleme tauchten gehäuft bei den Plasmozytom-Präparaten auf. Obwohl hier die Plasmozytomkriterien der WHO quantitativ nicht erfüllt wurden,⁷⁴ konnten die typischen Atypiezeichen wie z.B. riesige Plasmazellen mit teilweise sehr lockerem Chromatin, Auftreten von Nukleolen und nur angedeutete perinukleäre Aufhellung dokumentiert und somit zumindest eine Verdachtsdiagnose gestellt werden.⁶⁹ Trotzdem war die Fehlerquote insgesamt relativ gering mit insgesamt 2,4 %, stieg aber bei Fällen, die im Vorhinein bereits als Schwierigkeitsgrad 3 eingeschätzt wurden, auf 7,4 % an. Bei der Beurteilung wurde allerdings bereits eine Verdachtsäußerung als richtige Antwort eingestuft, da das Erkennen der atypischen Plasmazellen zur richtigen Diagnose führte.

Myeloproliferative Neoplasie

Bei den unterschiedlichen myeloproliferativen Neoplasien ist im Prinzip ist das Stellen einer Fehldiagnose, wie die eines reaktiven, hyperzellulären Knochenmarks, statt einer Polyzythaemia vera, aufgrund der klinischen Angaben mit Polyglobulie und niedrigem MCH schlecht nachvollziehbar. Bei der essentiellen Thrombozythaemie sieht man oft ein nahezu unauffälliges Knochenmark und stellt die Diagnose anhand der persistierende Thrombozytose.⁸⁴ Oft sind die Megakaryozyten vermehrt, müssen dies aber nicht sein. Die Knochenmarkdiagnostik ist bei beiden Erkrankungen zur Diagnosefindung nicht so wesentlich. Sie dient v.a. zum Ausschluss einer Faservermehrung in der Histologie. Schwierig war in der Vergangenheit auch hier die WHO-Definition. So war die essentielle Thrombozythaemie per Definition in erster Linie einer Ausschlussdiagnose. Ausgeschlossen wurden in der Regel CML, Myelofibrose, Polyzythaemia vera, Myelodysplasie (z.B. RARS-T) und reaktive Veränderungen. Die Thrombozytengrenze war auf $< 600 \times \text{Tsd.}/\mu\text{l}$ festgelegt.

Aktuell treten zytogenetische Veränderungen, insbesondere die V617F-Mutation des JAK2-Gens (etwa 50-60 % aller ET), die Mutation des Calreticulin (25 %) und des MPL (3 %) in den Vordergrund.⁹⁸ „Triple negativ“ sind 13 %.^{84, 26} Die Thrombozytengrenze wurde 2008 revidiert und liegt inzwischen bei $\geq 450 \times \text{Tsd.}/\mu\text{l}$.¹⁰¹

Pure red cell aplasia

Bei der „pure cell aplasia“ findet sich eine isolierte aplastische Anämie. Die Erythropoese ist stark vermindert oder fast fehlend. Problem ist, dass man völlig übersehen kann, dass die Erythropoese fehlt.

Hämolytische Anämie

Bei der hämolytischen Anämie besteht eine ausgeprägte Polychromasie des peripheren Blutes. Im Knochenmark zeigt sich eine leicht ausreifungsgestörte, massiv gesteigerte Erythropoese (s. Abb.28).⁷⁰ Es finden sich keine dysplastischen Veränderungen der Granulopoese oder Thrombopoese, wie dies in 13,9 % der Fälle diagnostiziert wurde und zur Verdachtsdiagnose eines dysplastischen Syndroms führten (s. Abb. 29-31).

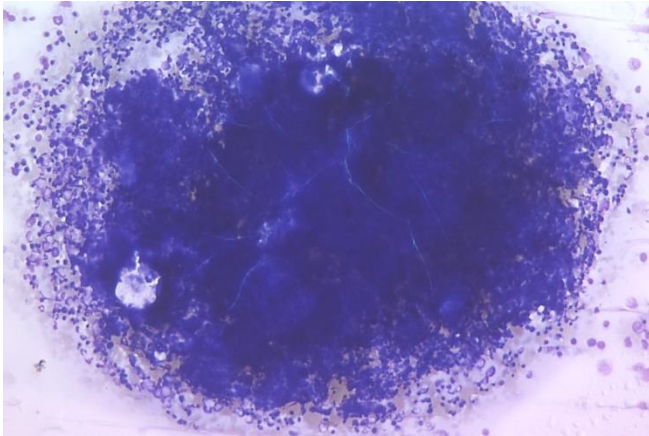


Abbildung 28: Hämolytische Anämie

Das deutlich hyperzelluläre Knochenmark (10er Objektiv) hat einige Ringversuchsteilnehmer veranlasst, eine Krebserkrankung der Blutbildung zu vermuten.

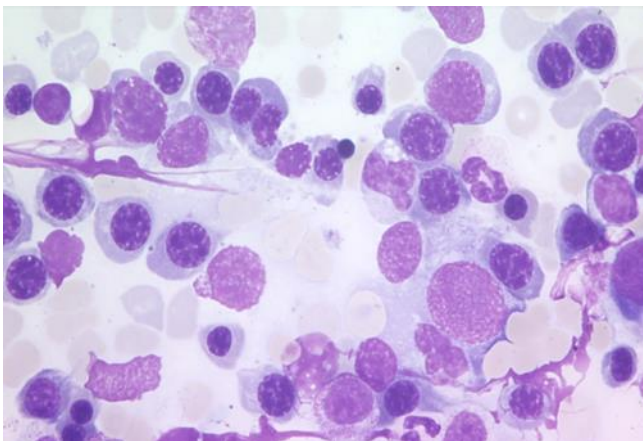


Abbildung 29: Hämolytische Anämie: Knochenmarkübersicht

Im Knochenmark besteht nur eine leicht ausreifungsgestörte Erythropoese, die massiv gesteigert ist, wie dies bei Hämolysen der Fall ist. Dysplastische Veränderungen der Megakaryozyten und Granulozyten fehlen (63er Objektiv).

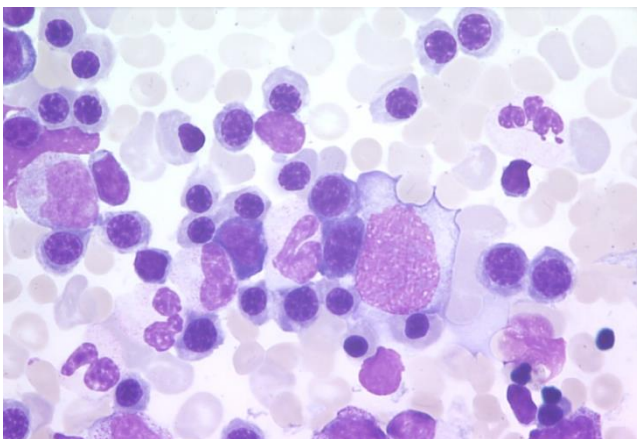


Abbildung 30: Hämolytische Anämie: keine Dysplasiezeichen

Reife, morphologisch unauffällige Erythroblasten, keine Dysplasie (63er Objektiv). Der neutrophile Granulozyt bei 2 Uhr sowie die beiden bei 8 Uhr haben keine Granulation. Dies wäre prinzipiell ein Merkmal einer Myelodysplasie und hat möglicherweise einige Ringversuchsteilnehmer zur MDS-Diagnose verleitet. Hier ist die fehlende Granulation jedoch nur Ausdruck der zu blassen Färbung, was daran erkennbar ist, dass die Thrombozyten nur minimal angefärbt sind (keine Thrombozyten in diesem Ausschnitt). Zusätzlich verwirren kann die große blastäre, nicht sicher einzuordnende, mechanisch alterierte Zelle im Zentrum.

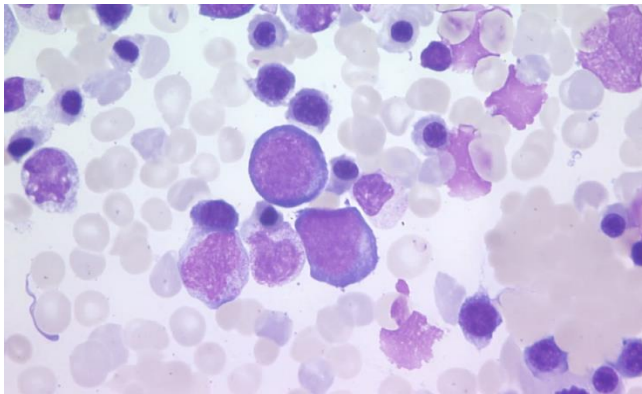


Abbildung 31: Hämolytische Anämie: Fehldiagnose Myelodysplasie

Hier sind neben den verstreut liegenden kleineren auch zwei große Erythroblasten in der Mitte, die unter Umständen als neoplastische Zellen interpretiert werden könnten und die Fehldiagnose einer Myelodysplasie begünstigen können (63er Objektiv)

Remissionsstatus der akuten Leukämien:

Bei der akuten myeloischen Leukämie ohne Remission: Es zeigt sich hyperzelluläres Knochenmark. Die Hämatopoese war hier bis auf die gut vertretenen Megakaryozyten nicht zu sehen. Der Rest besteht aus myeloischen Blasten. Problem war hier, dass sich in diesem hyperzellulären Knochenmark in vielen Ausstrichbereichen einige zerstörte Zellen zeigten. Die Natur der Blasten ließ sich nur an den Stellen gut identifizieren, wo die Erythrozytendichte ausreichend vorhanden, und das typische morphologische Bild noch erhalten war.

Bei einer Remissionsbeurteilung nach Therapie, sowohl der akuten myeloischen als auch der akuten lymphatischen Leukämie, wurde das Präparat oft als nicht repräsentativ und somit nicht beurteilbar angesehen. Allerdings steht dem Untersucher naturgemäß nach einer zyto reduktiven Chemotherapie meistens nur ein sehr hypozelluläres Knochenmark zur Verfügung. Trotzdem muss hier eine sichere Aussage bezüglich des Remissionsstatus gemacht werden. Schwierig war hierbei die Beurteilung der Blasten, da den Teilnehmern der Vorbefund nicht zur Verfügung stand und somit ein Vergleich der Blasten nicht möglich war. Im Befund selber fanden sich Promyelozyten und einzelne Blasten, die aber eine beginnende Granulation zeigten und so in jedem Knochenmark vorkommen.

4.3 Analyse der Fehlerraten

Fasst man die Fehlerraten der o.g. Erkrankungen auf das Wesentliche zusammen, so muss insbesondere die Fehlerquote von 0,0 % bei dem myelodysplastischen Syndrom vom Typ RCMD und RARS Schweregrad 2, mit deutlichem Vorbehalt beurteilt werden, da die Fallzahl sehr gering war und bei allen anderen MDS-Formen höhere Fehlerquoten zu dokumentieren waren. Bei der refraktären Anämie mit Blastenexzess tauchen aber immer wieder Probleme, insbesondere beim korrekten Zählen und identifizieren von Blasten, aber auch in der Beurteilung von dysplastischen Zellreihen auf.³⁵ Problematisch ist hier auch die enge Grenze der Knochenmarkinfiltration durch die WHO, die bei 10-19 % Blasten noch von RAEB II spricht und ab ≥ 20 % myeloischer Blasten im Knochenmark oder Blut von einer akuten myeloischen Leukämie spricht.¹⁴ Bei RAEB II stieg die Fehlerquote sogar auf 35,1 % an. Auffällig ist das 5q-Minus-Syndrom mit einer Fehlerquote von 34,6 %, wobei der typische zytomorphologische Befund mit den bekannten therapeutischen Optionen unter Lenalidomid allgemein stärker in den Fokus geraten ist,³ so dass aktuell eine deutlich niedriger Fehlerquote erwartet würde. Man darf aber nicht außer Acht lassen, dass bei dem Subtyp refraktäre Anämie mit Blastenexzess (RAEB) in 14 von 57 Fällen nur reaktive Veränderungen gefunden (21.0%) (Fehlertyp übersehene Erkrankung) (s.Tab.11).

Anders zeigt sich bei den Präparaten mit neu diagnostizierter akuter myeloischer Leukämie eine relativ geringe Fehlerrate (5,6 %). Die Teilnehmer hatten häufig Probleme mit hypozellulären Knochenmarksaspiraten, die bei dem Subtyp M3 und der hypozellulären AML Typ M2 als typische Biologie der Erkrankung betrachtet werden muss. Bezüglich der verschiedenen Subtypen hatten die Teilnehmer keinen Zugriff auf die Esterase oder Peroxidasefärbung. In der Bewertung reichte daher die Diagnose AML um die volle Punktzahl zu erhalten. Ausnahme ist der Remissionsstatus der AML M4 Eo. Die Eosinophilie und pathologischen eosinophilen Granula als Ausdruck des beginnenden Rezidivs wurde nur in 18,5 % der Fälle erkannt (s.Tab.30).

In 5 von 33 Fällen (15,1 %) der megaloblastären Anämie wurde von den Teilnehmern mindestens den Verdacht auf eine Myelodysplasie (s.Tab.16) gestellt.

Non-Hodgkin-Lymphome machten den Teilnehmern erwartungsgemäß wenige Probleme. Allerdings ist die Differenzierung von indolenten Non-Hodgkin-Lymphomen in der reinen Zytologie schwierig. Hier wird ergänzend die Histopathologie, Immunphänotypisierung und Zytogenetik eine Klärung des entsprechenden Subtyps bringen. Ein Sonderfall stellt die Haarzell-Leukämie dar, bei der in 12 von 62 Fällen (19,0 %) eine falsche oder keine eindeutigen Aussagen gemacht wurden bzw. ein anderes indolentes Non-Hodgkin Lymphom (19,0 %) diagnostiziert wurde (z.B. Immunozytom) (s.Tab.19). Bezüglich der Plasmozytom-Präparate stimmt die zuvor vorgenommen Graduierung mit den Ergebnissen gut überein, allerdings wurde ein Präparat im Vorfeld schwieriger eingeschätzt (Grad 3), was aber am Gesamtergebnis nichts geändert hat.

Auffällig sind die myeloproliferativen Neoplasien, die mit einer Fehlerquote von 10,0 % noch gerade in die 2.Gruppe eingeordnet wurden. Theoretisch hätte man bei meist bekannten Laborwerten aber weniger Fehler erwarten können. So sind dauerhaft

erhöhte Hb-Werte > 2 Monate typisch für Erkrankungen aus dem myeloproliferativen Formenkreis, wie die Polyzythaemia vera.⁷²

Bei dem Präparat mit Knochenmarkkarzinose differieren die Fehlerquoten zwischen 0,0 % und 4,7 % abhängig vom Schweregrad. Letztendlich wurde die Knochenmarkkarzinose aber eher dem niedrigen Schweregrad zugeordnet.

Sowohl bei der idiopathischen Thrombopenie, den einfachen Präparaten des Plasmazell-Myeloms (hier gibt es auch Präparate mit deutlich höherem Schwierigkeitsgrad), als auch den monoklonalen Gammopathien unspezifischer Signifikanz, gab es insgesamt die zu erwartende niedrige Fehlerquote.

Ebenfalls aus dem Rahmen fällt eine Fehlerquote von 16,1 % bei einem eigentlich einfachen Präparat, dem Normalbefund (s.Tab.27). Von insgesamt 62 Fällen waren 10 falsch. Hier wurden 5-mal ein M.Hodgkin und einmal sogar ein Burkitt-Lymphom diagnostiziert. Beide Diagnosen sind in der klinischen Realität äußerst selten, und waren in der mikroskopischen Nachbefundung definitiv nicht nachzuweisen. Die Sensitivität für Aspiarte bei M.Hodgkin liegt allerdings nur bei 5 %.⁴²

Beim Remissionsstatus der akuten myeloischen Leukämie, ist die Fehlerrate gering wenn die AML persistiert, steigt aber an, wenn der Teilnehmer sich auf eine Vollremission festlegen musste.

4.4 Diagnostisches Vorgehen in Studien

Allgemein anerkannt ist, dass in Studien zur Therapie der akuten myeloischen und lymphatischen Leukämien sowohl Morphologie, Immunphänotypisierung als auch Molekularzytogenetik in einem zentralen Review organisiert und bewertet werden.^{40,41}

Dies gilt auch für die Studien der CLL-Studiengruppe. Eine zentrale Diagnostik wird sowohl in den CML- als auch in den Myelodysplasie-Studien vorausgesetzt. Allerdings werden nur die wenigsten Patienten in Studien behandelt. Die anderen werden ohne systematische externe Kontrolle dem diagnostischen Procedere unterzogen. So bleibt jedem Kollegen selbst überlassen, wie er einen zytomorphologischen Befund erstellt und welche Konsequenz er für den Patienten daraus zieht. Die Weitergabe der Knochenmarkpräparate an einen erfahrenen Zytomorphologen ist nicht in Leitlinien festgelegt und hat auch kein Empfehlungsniveau.

Zur Qualitätssicherung der Zytomorphologie kann, laut der Leitlinie hämatologische Diagnostik der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie aus August 2014, die Diagnostik durch eine versierte und ärztlich autorisierte Laborfachkraft erfolgen.⁵⁹ Eine Bewertung des Befundes und Diagnosestellung muss durch einen entsprechenden Facharzt der Pathologie, Pädiatrie, Laboratoriumsmedizin oder Hämatologie erfolgen. Die Teilnahme an einer externen Qualitätskontrolle (z.B. in Ringversuchen) wird als erforderlich, eine Zertifizierung des Labors als wünschenswert betrachtet, aber nicht überprüft.

Bei den myelodysplastischen Syndromen wird eine vorsichtige Analyse des Blutes und Knochenmarks nahegelegt, idealerweise von einem erfahrenen Facharzt. Es wird

darauf hingewiesen, dass Fehldiagnosen nicht unüblich sind und zur Not eine Retrepanation erfolgen sollte.³⁷ Die Leitlinien zum myelodysplastischen Syndrom erfassen nicht die Probleme in der Qualität der Zytomorphologie.⁵¹ Die IPSS-R Klassifikation verschärft das Problem noch durch Unterteilungen in prognostische Gruppen anhand von marginalen Veränderungen des Blastenprozentsatzes (0-2 % vs. 3-4 % vs. 5-10 % vs. 11-19 %).⁴³ In der Realität schwankt die Beurteilung der Blastenzahl auch bei Experten, z.B. bei der Unterscheidung zwischen RAEB-T und AML M2, sehr stark.³⁵

Weltweit wird weder in Studien noch in Publikationen geprüft, inwieweit bei der Beurteilung von zytomorphologischen Präparaten eine diagnostische Sicherheit existiert. Es gibt Referenzeinrichtungen im Rahmen der o.g. Studien, aber weder Richt- oder Leitlinien, noch Empfehlungen wie mit komplexen hämatologischen Erkrankung diagnostisch umzugehen ist. Dies steht im Kontrast zu einer sich immer weiter entwickelnden Qualitätssicherung bzw. einem ausufernden Qualitätsmanagement.

Ohne Frage nimmt die Zytomorphologie trotz zusätzlicher, diagnostischer Werkzeuge, wie Immunhistochemie, Histopathologie, Immunphänotypisierung oder Molekularbiologie noch einen wichtigen Stellenwert ein, und ist ein schnelles und kostengünstiges diagnostisches Werkzeug.¹¹⁹ Um zu einer Diagnose einer Erkrankung z.B. des myeloproliferativen Formenkreises zu gelangen, wird der erfahrene Diagnostiker ein Teil dieser Techniken zu nutzen wissen. So wird die V617F-Mutation des JAK2-Gens bei fast 100 % der Polyzzythaemia vera-Fällen positiv, ähnlich wie die bcr-abl-Expression bei der CML, aber nur bei 60 % der essentiellen Thrombozythaemie wird man die JAK2-Mutation finden.^{97,98} Das Krankheitsbild der ET lässt sich aber in der Gesamtschau aller Befunde gut entwickeln.

Myelodysplasien sind in 80-90 % der Fälle mit zytogenetischen Veränderungen assoziiert.^{37, 39} Dies hat in der jüngeren Vergangenheit zu der Erweiterung des IPSS-Risiko-Scores hinzu einem zytogenetisch orientierten Risiko-Score, dem IPSS-R geführt.^{43,71} Insbesondere bei den low-risk-Patienten mit refraktärer Anämie oder refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten wird die eigentlich Diagnose aber meist durch den erfahrenen Zytomorphologen gestellt, da zytogenetische Veränderungen in diesen Fällen seltener sind. Ein weiteres Problem stellt die unterschiedliche Interpretation der Blastenpopulation dar. Die zusätzliche Durchflusszytometrie ist hilfreich und kann bei dem myelodysplastischen Syndrom zum Zählen der CD34+ Zellen genutzt werden, wobei allerdings nicht alle Blasten CD 34-positiv sind.^{102,114} Letztendlich führt die Kombination aus morphologischen Merkmalen und zytogenetischen Veränderungen zu einer Verbesserung der diagnostischen Ergebnisqualität.¹¹⁴ So bestehen enge Verbindungen zwischen Ringsideroblasten und einer SF3B1-Mutation. Schwere dysplastische Veränderungen der Granulopoese finden ihr Korrelat in Mutationen der ASXL1, RUNX1, TP 53 und SF3B1-Genen.³⁹

Diagnostische Probleme gab es in der Vergangenheit in ähnlicher Weise bei der histopathologischen Diagnose und Klassifizierung von malignen Lymphomen. Hier haben sich im Kompetenznetzwerk maligne Lymphome eine Reihe von Referenzpathologen zusammengeschlossen, die auf dem Gebiet der Lymphom-erkrankungen langjährige diagnostische Erfahrung einbringen. Deren Zusammenarbeit und zentrale Referenzdiagnostik in klinischen Studien und hat sich im Alltag der

klinisch tätigen Hämatologen und Onkologen sehr bewährt. Seitens der GKV erfolgt z.B. im Rahmen der IVML (Integrierte Versorgung maligner Lymphome) eine bewusste Unterstützung. Bei dem im Sozialgesetzbuch V (§ 140a ff. SGB V) gesetzlich verankerten Konzept der Integrierten Versorgung (IV) werden Patienten in qualitätsgesicherten, transparenten und sektorenübergreifenden, beziehungsweise fachübergreifend vernetzten Strukturen versorgt.⁵⁸

Die Basis von medizinischer Forschung sollte, neben der notwendigen Evolution und Innovation in der Therapie und Versorgung schwer kranker Patienten, insbesondere die Überprüfung der Ergebnisqualität - auch der diagnostischen - zum Ziel haben. Letztendlich benötigen moderne Therapieansätze immer komplexere und zum Teil kostspielige Untersuchungstechniken, so dass der Bedarf an diagnostischer Expertise steigen wird. Die Lenkung z.B. von zytogenetischen Untersuchungen durch die Zytomorphologie ist kosteneffizient, bedarf im Einzelfall aber auch einer Referenz.

4.5 Qualitätssicherung

Qualitätssicherung in der medizinischen Versorgung von hämatologischen Patienten wird in den letzten Jahren zunehmend durch eine schnell wachsende Industrie, dem sogenannten Qualitätsmanagement, bestimmt. Ziel ist, wie es dort heißt „die Sicherung und Verbesserung der Qualität insbesondere der ärztlichen und pflegerischen Tätigkeiten“. Die Patienten sollen „bedarfsgerecht und wirtschaftlich“ versorgt werden [Bundesministerium für Gesundheit „Qualitätssicherung im Krankenhausbereich“.] Die Grundanforderungen zur Qualitätssicherung werden im „Fünften Sozialgesetzbuch (SGB V)“ geregelt.⁹¹ Konkrete Regelungen im ambulanten und stationären Versorgungsbereich werden durch den gemeinsamen Bundesausschuss (G-BA) festgelegt.⁹⁴ Dem G-BA wird die „Gestaltungshoheit“ für die Qualitätssicherung in der vertragsärztlichen Versorgung und im stationären Bereich, zugesprochen. In der externen stationären Qualitätssicherung wird etwa 20 % der erbrachten Leistung in Krankenhäusern überprüft, insbesondere handelt es sich um Leistungen aus dem operativen Bereich.²⁴

Konkret muss sich aus diesen aufwendigen, kostenintensiven Qualitätsmanagementstrukturen bezüglich der Frage nach Qualität auch eine überprüfbare Datenmenge aus entsprechenden Studien z.B. zur Frage der Fehlerquote in der Diagnostik von hämatologischen Erkrankungen, aber natürlich auch in anderen Fachbereichen, ergeben. In § 2 Abs. 1 Satz 3 und § 135a Abs.1 des SGB V ist geregelt, dass „Qualität und Wirksamkeit der Leistungen dem allgemein anerkannten Standard der medizinischen Erkenntnis entsprechend und den medizinischen Fortschritt berücksichtigen müssen“.^{92, 93}

In der Neufassung der Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsspezifischer Untersuchungen (Rili-BÄK 08/14)^{18,19} werden qualitative²¹ und quantitative Techniken wie z.B. Immunologie, Molekularzytogenetik oder Bestimmung von Serumparametern wie etwa Tumormarker oder Leberenzyme überprüft.²³ Bezüglich der Färbetechniken, wie der Giemsa-Färbung, gibt es eine pH-Vorgabe (6,8 bis 7,2) und die Aufforderung einer täglichen internen Qualitätssicherung

durchzuführen. Die eigentliche Pappenheim-Färbung zur Färbung von Blutaussstrichen (Kombination aus Giemsa- und May Grünwald-Färbung)¹¹ findet keine Erwähnung.²¹ Hier werden die Bedingungen für externe Ringversuche formuliert und festgelegt.²²

Bezüglich des Ringversuches bleibt kritisch anzumerken, dass zum Teil die Fallzahl bezüglich der jeweiligen Diagnose naturgemäß klein war. Beim besagten 5q-Minus Syndrom waren es nur 26 Fälle (1772 Einzelpräparate) und beim MDS vom Typ RCMD nur 14 Fälle, so dass die Beurteilung rein statistisch schwer fällt. Die Protokollbögen sind z.T. sehr umfangreich (s. Auswertungsbogen im Anhang), so dass die Dokumentation nicht immer vollständig war. Weiter muss bei der Auswertung bedacht werden, dass in den letzten Jahren durch selektive Medikamente wie dem genannten Lenalidomid beim 5q-Minus Syndrom oder Ruxolitininb bei der V617F-Mutation der Januskinase der Myelofibrose, sich letztendlich die Diagnostik und auch die WHO-Klassifikation verändert haben. So spielen bei den myeloproliferativen Erkrankungen die Mutationen von JAK 2 Exon 12, MPL Exon 10 und somatische Mutationen des Calreticulin eine immer größere therapeutische und prognostische Rolle.²⁶

Statistisch war der edukative Wert der Ringversuche hier nicht nachzuweisen, wobei aus den ausgewerteten Protokollbögen nicht immer sicher der jeweilige Untersucher zu bestimmen war. Vor allem bei den Instituten, die mehrfach teilgenommen hatten, ist ein Wechsel des Untersuchers anzunehmen.

Bei der AML M4 Eo sind Eosinophilie und pathologischen Granula, als frühes Zeichen eines Rezidivs nur 17,2 % der Teilnehmer aufgefallen. Die Auswahl der Präparate gab den Alltag eines Hämatologen wieder, bezüglich des höchsten Schwierigkeitsgrades hat aber vorher eine Selektion durch den Referenzzytomorphologen stattgefunden. Äußerst schwierige Fragen wie z.B. die Unterscheidung zwischen den Blasten einer AML M4 und einer chronisch myeloisch-monozytären Leukämie, waren nicht Teil der Ringversuche.

4.6 Analyse aus der Perspektive der Diagnose der Ringversuchsteilnehmer

Analysiert man die Daten vom Standpunkt der Ringversuchsteilnehmer, also der Frage wie häufig eine gestellte Diagnose tatsächlich richtig ist, und nicht wie oft und welche Fehler aufgetreten sind, so ergibt sich ein etwas anderes Bild. Bei bestimmten Diagnosen fällt auf, dass eine gestellte Diagnose relativ sicher auch tatsächlich richtig war. So ist die Quote bei fehlendem Remissionsstatus der akuten Leukämien bei 100 %, ebenso bei PRCA und ITP. Bei myeloproliferativen Syndromen und AML ohne Subgruppendifferenzierung und Normalbefunden stimmen immerhin über 80 % der Fälle mit Ausnahme der essentiellen Thrombozythaemie mit nur 69,7 % (Tab.33). Bei reaktiven Veränderungen stimmt die Diagnose aber nur in 10,6 % der Fälle (Tab.36). Hier wurden prognostisch bedeutsame Erkrankungen wie PRCA oder MDS übersehen, letztere sogar in über 50 % der Fälle.

4.7 Resümee und Ausblick

Grundlegende Probleme tauchen bereits bei der Zuweisung der Patienten durch fachfremde, niedergelassene Ärzte auf. So werden in den Vereinigten Staaten von Amerika nur 3,8 % aller Patienten mit isolierter Anämie einem hämatologischen

Facharzt zugewiesen. Erst bei Auftreten eines weiteren Symptoms steigt die Zuweisungsrate z.B bei Auftreten einer Panzytopenie auf 88,7 %.²

Im Alltag werden Fehler in der Mikroskopie oft durch andere Teile der hämatologischen Diagnostik wie z.B. die Knochenmarkshistologie oder immunologische Untersuchungen korrigiert. So wird z.B. bei der akuten myeloischen Leukämie die Diagnose in der Regel erst nach Würdigung der Zytogenetik, Immunhistochemie, Immunphänotypisierung, Fluoreszenz in situ Hybridisierung und Polymerase-Kettenreaktion gestellt.⁴⁴

Die Zytologie stellt aber weiter eine wichtige Grundlage für die Planung der weiterführende Diagnostik und Therapie dar.¹¹⁹ So ist, bei der Bestimmung des Remissionsstatus unter der Therapie einer akuten myeloischen Leukämie, die sich bei geringer Zellzahl durchaus sowohl einem zytologischen wie auch einem molekularzytogenetischen Nachweis entziehen kann, und eben auch zu einem Teil keine molekularen Marker besitzt, die zytomorphologische Beurteilung von großer Bedeutung. Im Gegensatz zur akuten lymphatischen Leukämie eignet sich ca. die Hälfte aller AML's nicht zur MRD-Bestimmung, da noch geeignete molekulare Ziele fehlen.⁸³ Die MRD mittels RQ-PCR-Bestimmung wird allerdings bereits sehr erfolgreich bei der CML, APL, CBF-AML eingesetzt.⁵²

Die statistische Streuung nimmt zum letzten auswertbaren Jahr 2005 deutlich zu, so dass eine Verbesserung der Mehrfachteilnehmer nicht zu beobachten war. Mögliche Ursache könnten stark wechselnde Untersucher mit sehr unterschiedlichem Ausbildungsstand sein.

Letztendlich wird in den Richtlinien für Labormedizin der Bundesärztekammer das Vorgehen und die Pflichten bei qualitativen labormedizinischen Untersuchungen formuliert und festgelegt. Ringversuche bilden in diesen Fällen die Basis für eine Qualitätssicherung.²² Um eine vertretbare Ergebnisqualität zu erhalten spielen Referenzinstitutionen bei der Vergabe von Ringversuchen daher eine wesentliche Rolle. Ähnlich, wie bei der Diagnostik von malignen Lymphomen, wäre eine Referenzinstitution für die Qualität der zytomorphologischen Diagnostik in der Hämatologie sinnvoll. Zum einen würde die Diagnostik durch einige zytomorphologischen Spezialisten supervidiert, so dass für die Einsender auch ein edukativer Effekt besteht, zum anderen ermöglicht dieses Vorgehen eine konstant, hochwertige Diagnosestellung. In der Praxis hat sich das Vorgehen auch im Bereich der Immunphänotypisierung, Molekularzytogenetik und der Histopathologie sehr bewährt. Bezüglich der Zytomorphologie wäre ein solches Vorgehen ebenfalls wünschenswert. Die virtuelle bzw. digitale Mikroskopie ermöglicht in der Pathologie bereits eine Vereinfachung der Organisationsstrukturen und den Aufbau von entsprechenden Netzwerken.⁸⁵ In Zukunft werden computerassistierte Systeme etabliert werden, um die Nachteile der manuellen Diagnostik (verzögerte Diagnostik, fehlende Standardisierung, starke Abhängigkeit von den Fähigkeiten des Untersuchers) zu vermeiden.^{86,88} Im Vergleich zu einer normalen visuellen Befundung von mikroskopischen Präparaten, erreicht man in der Pathologie mittels des „Whole-slide imaging digital pathology“ bereits eine Korrelation von 91 % im Vergleich zum Standardverfahren. Bei neoplastischen Präparaten sogar 93 %.⁷⁶ Inzwischen werden in der Pathologie bereits mittels Pubmed und Google Scholar-basierten Daten digitale

Photographie-Techniken angewendet, die u.a. Kameratechnik aus „Smartphones“ in Zusammenhang mit „whole slide imaging“ nutzen.^{111,76}

Die meisten Fortschritte wird es also voraussichtlich in der digitalen Datenverarbeitung geben. Die Digitalisierung der Präparate ermöglicht das virtuelle Mikroskopieren auch via Internet und bildet die Basis für weitere Fortbildung ggf. im Rahmen eines Netzwerkes im Austausch mit Kollegen oder Hilfestellung durch einen erfahrenen Zytomorphologen.⁸⁹ Insbesondere im Bereich der Diagnostik in der Pathologie finden diese Techniken zunehmend Anwendung. Mittels der statischen und dynamischen Telepathologie werden bereits edukative Ziele in Entwicklungsländern verfolgt.⁵⁴ Dies könnte auf die Dauer zur Bildung von digitalen telepathologischen Zentren führen.⁶

Ein wichtiges Problem stellt die Validierung und Qualität der digitalen Präparate dar.^{13,}⁸⁶ Außerhalb bestimmter Nischen wie Telepathologie zur Erstellung einer Zweitmeinung entwickeln sich Systeme zur computer-assistierte Diagnoseerstellung (pCAD) eher langsam.³⁰ Die virtuelle Mikroskopie ermöglicht die Fortbildung über eine größere Distanz und wird daher immer populärer auch weil sie relativ kosteneffektiv ist. Die Effektivität war in einem Vergleich der virtuellen mit der manuellen Mikroskopie, in einer Gruppe der Studenten mit der virtuellen Mikroskopie, besser.¹⁶

In jüngster Zeit wurde in Zusammenarbeit des Fraunhofer Institutes für Integrierte Schaltungen (IIS) und INSTAND, im Rahmen eines bundesweiten Pilotversuches, eine digitale Plattform („HemaWeb“) geschaffen, die sich an Fachkräfte in dem Fachbereich Hämatologie richtet und ein interaktives Wissensportal darstellt, dass sowohl über eine Datenbank Fallbeispiele zur Verfügung stellt, aber auch supervidierte Falldiskussionen eigener Fälle ermöglichen soll. Hierüber soll auch eine Zertifizierung angeboten werden.⁷⁸

Was die reine Technik in der Mikroskopie betrifft, hat die STED-Mikroskopie („stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy“) die Auflösungsgrenzen deutlich verschoben.⁴⁸ Normale Lichtmikroskope haben laut dem Gesetz von Abbe eine Auflösungsgrenze von 200 nm.^{1,110} STED-Mikroskope können aktuell bis zu einer Grenze von 2,4 nm auflösen.¹¹² Hiermit lassen sich physiologische Abläufe z.B. an Nervengewebe darstellen oder die Interaktion von Krebszellen untereinander oder mit gesunden Körperzellen. Denkbar ist auch die direkte Beobachtung der Wirkung von Medikamenten. Der Schwerpunkt wird also in der biomedizinischen Grundlagenforschung liegen und weniger in der alltäglichen Diagnostik von hämatologischen Neoplasien.¹¹⁰

5. Publikationsverzeichnis

1. Abbe E. Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung. Archiv für Mikroskopische Anatomie 9.1873.413-468
http://de.wikipedia.org/wiki/Licht-mikroskop#cite_ref-3.

2. Abel GA, Friese CR, Neville BA, et al. Referrals for suspected hematologic malignancy: a survey of primary care physicians. *Am J Haematology*. Jun 2012; 87(6): 634-6.
3. Abou Zahr A, Saad Aldin E, Komrokij RS, Zeidan AM. Clinical utility of lenalidomide in the treatment of myelodysplastic syndromes. *J Blood Med*. Dec 2014; 6: 1-6.
4. Arber DA, Brunning RD, Le Beau MM, Falini B, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th edition: Acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities: AML with inv 16; CBFB-MYH11*. IARC Press, Lyon 2008: 110-123.
5. Aul C, Giagounidis A, Germing U. 2010. Myelodysplastic syndromes. *U. Internist (Berl)* Feb 2010; 51(2): 169-82.
6. Ayad E, Sicurello F. Telepathology in emerging countries pilot project between Italy and Egypt. *Diagnostic Pathology*. 3 (Suppl 1); 2008: 2.
7. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, et al. Proposals for the classification of the acute leukemias. French-American-British (FAB) Co-operative group. *Br J Haematol*. Aug 1976; 33(4): 451-8.
8. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med*. Oct 1985; 103(4): 620-5.
9. Bennett JM, Brunning RD, Vardiman JW. World Health Organization classification of the acute leukemias and myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol*. Aug 2000; 72(2): 131-3.
10. Binder T, Diem H, Fuchs R, Gutensohn K, Nebe T. Pappenheim-Färbung: Beschreibung einer hämatologischen Standardfärbung – Geschichte, Chemie, Durchführung, Artefakte und Problemlösungen. *J Lab Med*. 2012;36: 293-309.
11. Binder T. <http://binder-ventil.de/wp-content/uploads/2014/12/pappenheim-faerbung.pdf>. 2011.
12. Böcker P, Qualitätsmanagement im Krankenhaus - Ein praxisorientierter Vergleich von Qualitätsmanagementsystemen und Bewertungsverfahren. GRIN Verlag GmbH Norderstedt. Nov 2007: 8.
13. Brandon DG, Gavrielides MA, Stephen M, Hewitt SM, Treanor D: Working group Invitation: Image quality in whole imaging and pathologist performance. <http://www.visiopharm.com/blog/category/fda/> May 2014.

14. Brunning RD, Orazi A, Germing U, Le Beau MM, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th edition*. Chapter 5: Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. IARC Press, Lyon 2008: 88-93.
15. Bussel J, Cines DB. Immune thrombocytopenic purpura, neonatal alloimmune thrombocytopenia and posttransfusion purpura. *Hematology Edition 5*. Churchill Livingstone Elsevier; Chapter 138: 2083-2097.
16. Brueggemann MS, Swinehart C, Yue MJ, Conway-Klaasen JM, Wiesner SM. Implementing virtual microscopy improves outcomes in a hematology morphology course. *Clin Lab Sci*. 2012; 25(3):149-55.
17. Brunning R.D, Bennett J.M, Matutes E, Head D, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Chapter 5: Myelodysplastic Syndromes: Refractory cytopenia with multilineage dysplasia. IARC Press, Lyon 2008: 98-99.
18. Bundesärztekammer. Grundlegende Anforderungen an die Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen; Richtlinien der Bundesärztekammer; Fassung: Beschluss vom 11.04. und 20.06.14, *Dtsch. Ärzteblatt*. Jg.111, Heft 38; Sept 2014: 1583-1618.
19. Bundesärztekammer. Grundlegende Anforderungen an die Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen; Richtlinien der Bundesärztekammer; Fassung: Beschluss vom 11.04. und 20.06.14, *Dtsch. Ärzteblatt* Jg.111, Heft 38; Sept 2014: 1583-1586.
20. Bundesärztekammer. Qualitative labormedizinische Untersuchungen Abschnitt B2 und E2; Grundlegende Anforderungen an die Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen; Richtlinien der Bundesärztekammer; Fassung: Beschluss vom 11.04. und 20.06.14, *Dtsch. Ärzteblatt* Jg.111, Heft 38; Sept 2014:1596-1599; 1614-16.
21. Bundesärztekammer. Qualitative labormedizinische Untersuchungen Abschnitt B2 und E2; Grundlegende Anforderungen an die Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen; Richtlinien der Bundesärztekammer; Tabelle Interne Qualitätssicherung, B 3-1 s.1601, Fassung: Beschluss vom 11.04. und 20.06.14, *Dtsch. Ärzteblatt* Jg.111, Heft 38; Sept 2014: 1596-1599; 1614-16.
22. Bundesärztekammer. Qualitative labormedizinische Untersuchungen Abschnitt B3 Direkter Nachweis von Infektionserregern 2.2. Spezielle Anforderungen an Ringversuche bei qualitativen laboratoriums-medizinischen Untersuchungen. *Dtsch. Ärzteblatt* Jg.111, Heft 38; Sept 2014: 1601.

23. Bundesärztekammer. Quantitative labormedizinische Untersuchungen Abschnitt B1 und E1; Grundlegende Anforderungen an die Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen; Richtlinien der Bundesärztekammer; Fassung: Beschluss vom 11.04. und 20.06.14, *Dtsch. Ärzteblatt* Jg.111, Heft 38; Sept 2014: 1590-1596; 1612-1614.
24. Bundesministerium für Gesundheit. Qualitätssicherung im Krankenhausbereich. <http://www.bmg.bund.de/themen/krankenversicherung/stationaere-versorgung/qualitaetssicherung.html>.
25. Campo E, Pileri SA, Müller-Hermelink, Nathwani BN. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 10: Mature B-cell neoplasms: Nodal marginal zone lymphoma. IARC Press, Lyon 2008: 218–219.
26. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative syndromes. *Blood*. Jun 2014; 123(24): 3714-9.
27. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, et al. International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia: Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 21. 2003: 4642-9.
28. Ehrlich P. Ueber schwere anämische Zustände. Verhandlungen des Kongresses fuer Innere Medizin. 1892. <http://www.pei.de/DE/institut/paul-ehrlich/publikationen-gesamtliste-paul-ehrlich/publikationen-gesamtliste-paul-ehrlich-node.html>.
29. Della Porta MG, Travaglino E, Boveri E, Ponzoni M, Malcovati L, et al. Minimal morphological criteria for defining bone marrow dysplasia: a basis for clinical implementation of WHO classification of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. May 2014.
30. Fine JL. 21(st) century workflow: A proposal. *J Patholog Inform*. Nov 2014; 5: 44.
31. Foucar K, Falini B, Catovsky D, Stein H. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 10: Mature B-cell-neoplasma. Hairy cell leukaemia. IARC Press, Lyon 2008: 188-190.
32. Foucar K, Falini B, Catovsky D, Stein H. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 10: Mature B-cell-neoplasma. Hairy cell leukaemia-variant . IARC Press, Lyon 2008: 192-193.

33. Fuchs R, Staib P, Brümmendorf T. *Manual Hämatologie: Immunthrombozytopenie*. Nora-Verlag 22. Auflage. 2012: 146.
34. Gassmann W. *INSTAND-Ringversuche Frühjahr 2003*. W. www.leukemia-diagnostics.org w.gassmann @marienkrankenhaus.com .
35. Gassmann W. Ringversuch Nr.2 des Morphologie-Referenzpanels: Typisierung von Myelodysplasien und akuten myeloischen Leukämien. Grenzbefund zwischen RAEB-T und AML M2. www.kompetenznetz-leukaemie.de.
36. Gerabeck WE, Haage BD, Keil G, Wegener W. *Enzyklopädie der Medizingeschichte*. Hämatologie. Verlag Walter de Gruyter. Berlin 2005: 522-524.
37. Germing U, Kobbe G, Haas R, Gattermann N. Übersichtsarbeit: Myelodysplastische Syndrome: Diagnostik, Prognoseabschätzung und Therapie. *Dtsch Ärzteblatt Int*. Nov 2013;110(46): 783-790.
38. Germing U, Aul C, Niemeyer CM, Haas R, Bennett JM, Epidemiology, classification and prognosis of adults and children with myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*. Sep 2008; 87(9): 691-9.
39. Giagonidis A, Haase D. Morphology, cytogenetics and classification of MDS. *Best Pract Res Clin Haematol*. Dec 2013.
40. Gökbuget N, Ganzer A, Schlenk RF. Deutsche Gesellschaft für Hämato-Onkologie. Leitlinien ALL 2005. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines>.
41. Gökbuget N, Hauswirth AW, Kneba M, Schanz U, Ottmann O. Stand: Februar 2012. Aktuelle Leitlinie der DGHO ALL <https://www.dgho-onkopedia.de/de/onkopedia/leitlinien/akute-lymphatische-leukaemie>.
42. Goyal S, Singh UR, Rusia U. Comparative evaluation of bone marrow aspirate with trephine biopsy in hematological disorders and determination of optimum trephine length in lymphoma infiltration. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014 Jan 2; 6.
43. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, Bennett JM, Bowen D, Fenaux P, Dreyfus F, Kantarjin H, Kuendgen A, Levis A, Malcovati L, Cazzola M, Cermak J, Fonatsch C, Le Beau MM, Slovak ML, Krieger O, Luebbert M, Maciejewski J, Magalhaes SMM, Miyazaki Y, Pfeilstöcker M, Sekeres M, Sperr WR, Stauder R, Tauro S, Vallespi T, van de Loosdrecht AA, Germing U, Haase D. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. Sept 2012. *Blood*: 120.

44. Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Schoch C.: Modern diagnostics in acute leukemias. *Crit Rev Oncol Hematol*. Nov 2005; 56(2): 223-34.
45. Harris NL, Campo E, Jaffe ES, Pileri SA, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 1: Introduction to the classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. IRAC Press, Lyon 2008:14-15.
46. Hasserjian RP, Gattermann N, Bennett JM, Brunning RD, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Myelodysplastic syndromes. Chapter 5: Refractory anaemia with ringed Sideroblasts. IRAC Press, Lyon 2008: 96-97.
47. Hasserjian RP, Le Beau MM, List AF, Bennett JM, Thiele J. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Myelodysplastic syndromes Chapter 5: Myelodysplastic syndrome with isolated del(5q).IRAC Press, Lyon 2008: 102
48. Hell S, Wichmann J. Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy, *Optic letters*.1994. Vol 19, 780-782.
49. History of the microscope.org „Robert Hooke“<http://www.history-of-the-microscope.org/robert-hooke-microscope-history-micrographia.php>.
50. History of the microscope.org „Anton von Leeuwenhoek “<http://www.history-of-the-microscope.org/anton-van-leeuwenhoek-microscope-history.php>.
51. Hofmann WK, Platzbecker U, Stauder R, Passweg J, Germing U. Leitlinien Myelodysplastische Syndrome, *Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie*, Feb 2013.
52. Hourigan CS, Karp JE. Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *Nat Rev Clin Oncol*. Aug 2013; 10(8): 460–471.
53. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Campo E, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 8: Introduction and Overview of the Classification of the lymphoid neoplasms. IARC Press, Lyon 2008: 158-166.
54. Jara HG, A Barcelo H. Telepathology and continuous education: Important tools for pathologists of developing countries. *Diagnostic pathology*. 2008; 3 (Suppl 1); 24.
55. Kahl H. Geschichte der Mikroskopie. [http://www.mikroskop-museum.de /geschichte_19jh.htm](http://www.mikroskop-museum.de/geschichte_19jh.htm).

56. Kassenärztliche Bundesvereinigung und der GKV Spitzenverband. Bundesmantelvertrag der Ärzte vom 1. Januar 2015. Berlin. http://www.kbv.de/media/sp/BMV_Aerzte.pdf.
57. Kelleher MT, Kendall A, Chowdhury S. Bone marrow carcinosis and disseminated tumor cells. *Onkologie*. 2010; 33:7-9.
58. Kompetenznetz maligne Lymphome. *IVML Kontrollbericht 2008-2012* http://www.lymphome.de/Netzwerk/Broschueren/WEB_IVML_CONTROL_26_09_12.
59. Kreuzer KA, Bettelheim P, Haferlach T, Rosenwald A. Leitlinie hämatologische Diagnostik. August 2014. <https://www.dgho-onkopedia.de/de/onkopedia/leitlinien/haematologische-diagnostik>.
60. Ledermüller MF: Mikroskopische Gemüths- und Augen-Ergötzung: bestehend, in ein hundert nach der Natur gezeichneten und mit Farben erleuchteten Kupfertafeln, samt deren Erklärung..., Nürnberg, Christian de Launoy. 1761: 2002.
61. Leibbrand W. "Ehrlich, Paul" in: Neue Deutsche Biographie 4 (1959): 364-365. <http://www.deutsche-biographie.de/ppn118529358.html>.
62. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. 2004. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel I;II: Punktionstechnik und Zellpräparation: Blutaussstrich. Färbemethoden. 6. Auflage. Springer Verlag Berlin-Heidelberg. 2004: 4;10-12.
63. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel IV: Blut und Knochenmark: Megaloblastische Anämien.Erythroblastopenie.6. Auflage. Springer Verlag Berlin-Heidelberg. 2004 : 90-95; 101.
64. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel IV: Blut und Knochenmark Myelodysplastische Syndrome. Springer Verlag Berlin-Heidelberg 6.Auflage. 2004: 160; Tab.10a;10b: 159.
65. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel IV: Blut und Knochenmark. Dysplasiezeichen der Megakaryozyten. Springer Verlag Berlin-Heidelberg 6.Auflage. 2004: Abb.59 a-d: 164.
66. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel IV: Blut und Knochenmark: FAB- und WHO-Klassifikation. Springer Verlag Berlin-Heidelberg 6. Auflage. 2004: Tab.11a;11b und 12;180-182.
67. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. 2004. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Maligne Non Hodgkin Lymphome, Springer Verlag Berlin-Heidelberg 6.Auflage.2004: 308.

68. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel V Lymphknoten und Milz. Haarzellenleukämie. Springer Verlag Berlin-Heidelberg 6.Auflage. 2004: 312-313.
69. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel VI: Zytologie von Lymphknoten- und Milzpunktaten. Plasmazellen-Myelom. Springer Verlag Berlin-Heidelberg 6.Auflage. 2004: 355-360.
70. Löffler H, Haferlach T, Rastetter J. 2004. *Atlas der klinischen Hämatologie*: Kapitel IV: Blut und Knochenmark: Hämolytische Anämien. Chronische Erythroblastopenie. Springer Verlag Berlin-Heidelberg 6.Auflage. 2004: 82-89;101.
71. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Ades L, Cermak J, Consuelo del Canizo, Della Porta M, Fenaux P, Gattermann N, Germing U, Jansen JH, Mittelman M, Mufti G, Platzbecker U, Sanz GF, Selleslag D, Skov-Holm M, Stauder R, Symeonidis A, van de Loosdrecht AA, de Witte T and Cazzato M: Diagnosis and Treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood*. Oct 2013; 122(17): 2943-2964.
72. McMullin MF, Bareford D, Campbell P, Green AR, Harrison C, Hunt B, Oscier D, et al. On behalf of the General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology: Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycythaemia/erythrocytosis. *British Journal of Haematology*. Blackwell Publishing Ltd 2005: 130, 174–195.
73. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 10: Mature B-cell neoplasms: Plasma cell neoplasms. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. IARC Press, Lyon 2008: 200-202.
74. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 10: Mature B-cell neoplasms: Plasma cell neoplasms. IARC Press, Lyon 2008: 200-213.
75. Medizinprodukte-Betreiberverordnung (MPBetreibV), Medizinprodukte-Betreiberverordnung in der Fassung der Verordnung vom 11. Dezember 2014 (BGBl. I S. 2010) § 4a *Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien*. www.juris.de.
76. Morrison AO, Gardner JM: Microscopic image photography techniques of the past, present and future. *Arch Pathol Lab Med*. May 2015.

77. Müller-Hermelink HK, Montserrat E, Catovsky D, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 10: Mature B-cell neoplasms: Chronic lymphocytic leukemia/ small lymphocytic lymphoma. IARC Press, Lyon. 2008: 180-182.
78. Münzenmayer C, Fraunhofer IIS Institut. HemaWeb.
<http://www.iis.fraunhofer.de/de/ff/med/proj/medizinische-bildverarbeitung/mikroskopie/hemaweb.html>.
79. Neumann-Redlin von Meding E. 130. Anniversary of the cytolog(y)-ical foundation of modern hematology. *Verh. Dtsch. Ges Zytol.* 2001: 22 101-105.
<http://www.ernst-neumann-koenigsberg.de/Cytology/cytology.html>.
80. Neumann HA, Klinger Y. Knochenmark und Stammzelle. Der Kampf um die Grundlagen der Hämatologie. *Ex libris Roche*. Bd.1 Blackwell Verlag Berlin. 1994
<http://www.ernst-neumann-koenigsberg.de/Cytology/cytology.html>.
81. Orazi A, Brunning RD, Hasserjian RP, Germing U, Thiele J. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 5: Myelodysplastic syndromes. Refractory anaemia with blast excess. IARC Press, Lyon. 2008; 100-101.
82. Ossenkoppele GJ, Schuurhuis GJ. MRD in AML: It is time to change the definition of remission. *Best Pract Res Clin Haematol.* Sept-Dec. 2014; 27(3-4): 265-271.
83. Paietta E. Minimal residual disease in acute myeloid leukemia: coming of age. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012; 2012:35-42.
84. Palandri F, Latagliata R, Polverelli N, Tieghi A, et al. Mutations and long-term outcome of 217 young patients with essential thrombocythaemia or early primary myelofibrosis. *Leukemia*. Mar 2015.
85. Pantanowitz L, Sinard JH, Henricks WH, Fatheree LA, et al. College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. Validating whole slide imaging for diagnostic purposes in pathology: guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Patholog Lab Med*. Dec 2013; 137(12):1710-22.
86. Paulsen FP, Eichhorn M, Bräuer L. Virtual microscopy-The future of teaching histology in the medical curriculum? *Ann Anat.* Dec 2010; 192(6):378-82.
87. Petrides PE, Baerlocher GM, Gisslinger H, Griebßhammer M, et al. Essentielle Thrombocythaemie <https://www.dgho-onkopedia.de/de/onkopedia/leitlinien/essentielle-oder-primaere-thrombozythaemie-et>.

88. Putzu L, Caocci G, Di Ruberto C. Leucocyte classification for leukaemia detection using image processing techniques. *Aritif Intell Med*. Nov 2014; 62(3):179-9.
89. Riley RS, Ben-Ezra JM, Massey D, Cousar J. The virtual blood film. *Clin Lab Med*. Mar 2002; 22(1):317-45.
90. Sawada K, Fujishima N, Hirokawa M. Acquired pure red cell aplasia: updated review of treatment. *Br J Haematol*. Aug 2008; 142(4): 505–514.
91. Sozialgesetzbuch (SGB V). *Das Fünfte Buch Sozialgesetzbuch – Gesetzliche Krankenversicherung* –http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/sgb_5/gesamt.pdf.
92. Sozialgesetzbuch (SGB V). *Das Fünfte Buch Sozialgesetzbuch – Gesetzliche Krankenversicherung* –Stand: 23. Dezember 2014. Seite 4 :§ 2 Abs.1, Satz 3 http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/sgb_5/gesamt.pdf.
93. Sozialgesetzbuch (SGB V). *Das Fünfte Buch Sozialgesetzbuch – Gesetzliche Krankenversicherung* – Stand: 23.Dezember 2014 § 135a Abs.1 http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/sgb_5/gesamt.pdf.
94. Sozialgesetzbuch (SGB V). *Das Fünfte Buch Sozialgesetzbuch – Gesetzliche Krankenversicherung* – Stand: 23.Dezember 2014 § 137 (1) http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/sgb_5/gesamt.pdf.
95. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Acute myeloid leukaemia (AML) and related precursor neoplasms. IARC Press, Lyon 2008: 10-11.
96. Tavassoli M. Wintrobe MM. Bone Marrow: The Seebed of Blood. Neumann-law.*Blood, pure and eloquent sh*. 5.McGraw-Hill Book Company 1980. https://de.wikipedia.org/wiki/Ernst_Neumann_%28Pathologe%29.
97. Thiele J, Kvasnicka, Orazi A, Tefferi A, Gisslinger H. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 2: Myeloproliferative Neoplasms.Essential thrombocythaemia. IARC Press, Lyon 2008: 48-50.
98. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. Feb 2015;90(2):162-73.
99. Thomas L, Röhle G, Siekmann L. Erythrocyten. *Labor und Diagnose hrsg. Lothar Thomas*.7. Aufl., Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft, 2008: 677.

100. Röhle G, Siekmann L. Kap.50: Qualitätssicherung quantitativer Bestimmungen. *Labor und Diagnose hrsg. Lothar Thomas*. 7. Aufl., Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft.2008: 1872.
101. Vardimann JW, Melo JV, Baccharani M, Thiele J. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 2: Myeloproliferative Neoplasms. IARC Press, Lyon. 2008: 32-65.
102. Vardiman JW, University of Chicago: Hematopathological Concepts and Controversies in the Diagnosis and Classification of Myelodysplastic Syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006:199-204.
103. Vardimann JW, Brunning RD, Arber DA, Le Beau MM, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 1: Introduction and overview of the classification of the myeloid neoplasms. Rationale for the diagnosis and classification of AML. IARC Press, Lyon 2008: 27-30.
104. Vardimann JW, Brunning RD, Arber DA, Le Beau MM, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 1: Introduction and overview of the classification of the myeloid neoplasms. Myeloproliferative neoplasms. IARC Press, Lyon 2008: 18-30.
105. Vardimann JW, Brunning RD, Arber DA, Le Beau MM. et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 1: Introduction and overview of the classification of the myeloid neoplasms. Summary of major changes in the classification of MPN.IARC Press, Lyon 2008: 18-30.
106. Vardimann JW, Brunning RD, Arber DA, Le Beau MM, et al. *Swerdlow et al. (Eds.): WHO: Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition*. Chapter 1: Introduction and overview of the classification of the myeloid neoplasms. Acute myeloid leukaemia. IARC Press, Lyon 2008: 27-30.
107. Voggl M, Lichtscheidl I. Cell Imaging und Ultrastrukturforschung, Lichtmikroskopie-Theorie und Anwendung. Wien Feb. 2008.
108. Voswinckel P, "Neumann, Ernst Christian" in: Neue Deutsche Biographie 19.1999: 134 <http://www.deutsche-biographie.de/pnd116959185.html>.
109. Weinberg OK, Seetharam M, Ren L, Seo K, Ma L, Merker JD, Gotlib J, Zehnder JL, Arber DA. Clinical characterization of acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes as defined by the 2008 WHO classification system. *Blood*. Feb 2009; 113(9):1906-8.

110. Weißl M. STimulated Emission Depletion (STED) –Mikroskopie: „STED microscopy reveals that synaptotagmin remains clustered after synaptic vesicle exocytosis” *Seminar: Physikalische Messtechniken in der Biophysik*“ LMU München.
111. Wilbur DC, Madi K, Colvin RB, Duncan LM, Faquin WC, Ferry JA, et al. Whole-slide imaging digital pathology as a platform for teleconsultation: a pilot study using paired subspecialist correlations. *Arch Pathol Lab Med*. Dec 2009 ;133 (12):1949-53.
112. Wildanger D, Patton BR, Schill H, Marseglia L, Hadden JP, Knauer S, Schönle A, Rarity JG, O'Brien JL, Hell SW, Smith JM: Solid Immersion Facilitates Fluorescence Microscopy with Nanometer Resolution and Sub-Ångström Emitter Localization. *Advanced Materials*. 2012.
113. Wintrobe M. 1985. Hematology, the blossoming of a science, a story of inspiration and effort, Lea & Febinger, Philadelphia [http:// de.wikipedia.org/ wiki/ Spezial:Search ? ns0=1&search=Geschichte+der+H%C3%A4matologie](http://de.wikipedia.org/wiki/Spezial:Search?ns0=1&search=Geschichte+der+H%C3%A4matologie).
114. Wongprajun S, Auewarakul CU: A method comparison study of flow cytometry and cytomorphology to determine the percentage of blasts in patients with acute leukemia after induction and consolidation chemotherapy. *J Med Assoc Thai*. Jan 2010; 93 Suppl 1:157-64.
115. Yin CC, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE. Recent advances in the diagnosis and classification of myeloid neoplasms-comments on the 2008 WHO-Klassifikation. *International J of Laboratory Hematology*. 2010.
116. Zakarija A, Peterson LC, Tallman MS, *Hematology Edition 5*: Chapter 84: Basic Principles and Practice: “hairy cell leukemia” Churchill Livingston Elsevier; 2009:1349-57.
117. Zakarija A, Peterson LC, Tallman MS, 2009: *Hematology Edition 5*: Chapter 84: Basic Principles and Practice: hairy cell leukemia. Churchill Livingston Elsevier;2009: 1349-57 Table: 84-1.
118. Zini G, Kern W., Brereton M, Stephens AD: ICSH: On board with new projects. *Int J Lab Hematology*. Jun 2014; 36(3):306-12 .
119. Znidarčić: Clinical cytology: why and how?. *Acta Med Croatica*. Dec 2013; 67(5):395-400

6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
ASXL1-Gen	Additional Sex Comb-like Protein 1
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
CML	Chronisch myeloische Leukämie
CMML	Chronisch myelomonozytäre Leukämie
CR	Complete remission
CRP	C- reaktives Protein
Diff.-BB	Differential-Blutbild
ET	Essentielle Thrombozythaemie
FAB-	French American British classification
fl	femtoliter: 10^{-15} Liter
g/dl	Gramm pro Deziliter
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
HZL	Haarzell-Leukämie
IgG	Immunglobulin G
ITP	Idiopathische Thrombozytopenie
LDH	Lactatdehydrogenase
LGL	Large Granulocyte Leukaemia
xTsd./ μ l	mal Tausend pro Mikroliter
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MCV	Mean cell volume ⁹⁹
MCH	Mean cellular hemoglobin ⁹⁹
MCHC	Mean cellular hemoglobin concentration" ⁹⁹
MDS	Myelodysplasie: Myelodysplastisches Syndrom
MGUS	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
MNT	Marginalzonenlymphom vom nodalen Typ
MPL-Gen	Myeloproliferative leukemia virus oncogene ¹⁰¹
MPN	Myeloproliferative Neoplasie

MPS	Myeloproliferatives Syndrom
M1	AML ohne Ausreifung
M2	AML mit Ausreifung
M3	Akute Promyelozytenleukämie
M4E0	mit Eosinophilie
M5a/b	Akute Monoblasten-/Monozyten-Leukämie
M6	Akute Erythroleukämie
M7	Akute megakaryozytäre Leukämie
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
POX	Peroxidasereaktion
PRCA	Pure red cell aplasia
RAEB	Refraktäre Anämie mit Blastenexzess
RARS	Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
RCMD	Refraktäre Zytopenie mit multilineärer Dysplasie
RUNX1	Runk related transcription factor 1
SF3B1-Gen	Splicing factor 3B subunit 1
VR	Vollremission
WHO	World health Organisation

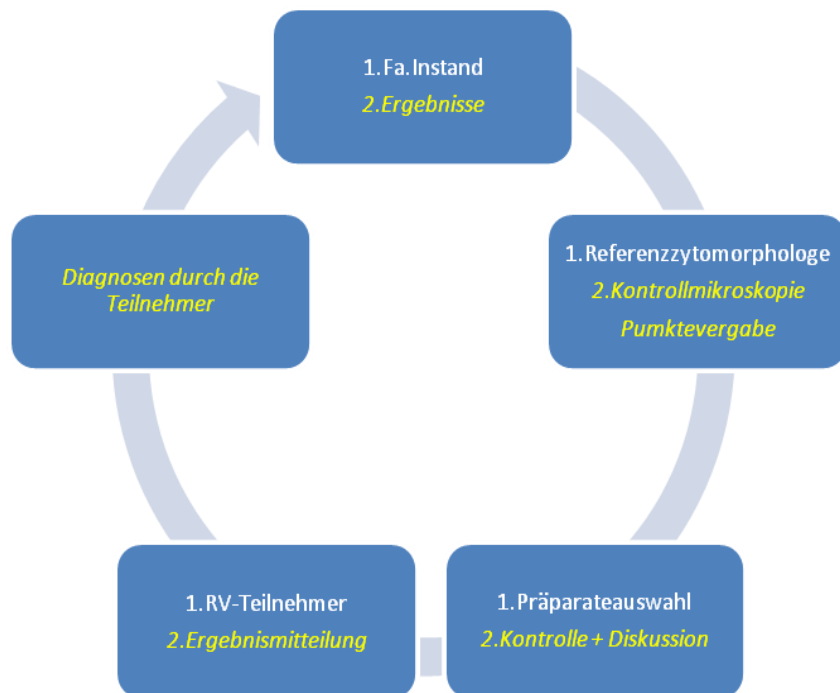


Abbildung 32: Organisationsstruktur des Ringversuches

6.2 Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfsmittel oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Giessen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift

6.3 Beispiel für einen Protokollbogen des Ringversuches 219 von 2001

BAB 312: 72-jähriger Patientin, bei der eine akute myeloische Leukämie vom Typ AML M1 diagnostiziert worden war. Es handelt sich um die erste Kontrollpunktion, 28-Tage nach Beginn einer zytostatischen Therapie mit Idarubicin und Cytarabin, Frage Remissionsstatus?

BRB698: 28-jährige Patientin mit neu diagnostiziertem M. Hodgkin zur Staging-diagnostik

FFD182: 72-jährige Patientin mit bekannter sero-negativer chronischer Polyarthrit, unspezifischen Gelenkbeschwerden und seit mehreren Jahren bekannte Leukozytose und Thrombozytose. Keine Lymphome. Keine Hepato-, Splenomegalie. Hb: 14,8 g/dl, Erythrozyten: 5,3 Mio./ μ l, MCV 88,1 fl, MCH 28,0 pg Leukozyten: 18,7 x Tsd./ μ l, Thrombozyten. 1,099 Mio./ μ l, 3 % Stabkernige, 80 % Segmentkernige, 2 % Eosinophile, 2 % Monozyten, 13 % Lymphozyten, LDH 382 U/l, CRP: 5,9 mg/dl

FHH933: 44-jährige Patientin mit seit 2-3 Wochen deutlicher Verschlechterung des Allgemeinzustandes und epigastrischen Beschwerden. Deutlicher Gewichtsverlust. Zuletzt Entwicklung einer Dyspnoe. Hb: 5,5 g/dl, Erythrozyten 1,9 Mio./ μ l, Hk: 17,6 % MCH: 35,0 pg, Leukozyten: 21,900/ μ l, Thrombozyten: 110 x Tsd./ μ l

NRN854: 64-jährige Patientin, die zur Abklärung einer Polyglobulie kam. Hb:19,0 g/dl, Erythrocyten:7,9 Mio./µl, Hkt 63,5 %, MCV 79,9 fl, MCH 23,9 pg, MCHC 29,9 g/dl, Leukozyten: 10,1 x Tsd./µl, Thrombozyten: 751 x Tsd./µl, Diff-BB.: 77 %, Segmentkernige: 5 %, Basophile: 1 %, Monozyten: 2 %, Lymphozyten: 5 %

SZF986: 20-jähriger Patient mit M. Hodgkin zur Stagingdiagnostik

TC254: 20-jähriger Patient im guten Allgemeinzustand mit Nachtschweiß, der zur Abklärung einer Leukozytose vorgestellt wurde. Hb: 9,0 g/dl, Erythrocyten: 2,9 Mio./µl, MCH: 94,1 pg, MCV: 94 fl, MCHC: 31,4 pg, Leukozyten: 161 x Tsd./µl, Thrombozyten: 681 x Tsd./µl + peripherer Blutausschlag

ZEE167: 73-jähriger Patient, der zur Abklärung einer monoklonalen Gammopathie in die Klinik kam. Gesamteiweiß: 7,5 g/dl, Gamm-Globuline: 31,8 %, deutlicher M-Gradient, IgG: 2010 mg/dl

ZTW910: 25-jährige Patientin mit Abgeschlagenheit, Schwäche, Kopfschmerzen zur Anämieabklärung: Hb: 8,0 g/dl, Erythrocyten: 2,0 Mio./µl, Hk: 26,1 % MCV: 130,5 fl, MCH: 40 pg, MCHC: 30,7 g/dl, Leukozyten: 15,3 x Tsd./µl, Thrombozyten: 272 x Tsd./µl, Diff.-BB liegt bei, Bilirubin: 6,3 mg/dl, LDH: 827 U/l, Kalzium: 2,76 mmol/l. Übrige Leberwerte, Retentionsparameter, Elektrolyte, Gerinnung, CRP, Urinstatus, Gesamteiweiß, Glukose unauffällig. Weitere Laborergebnisse liegen zum Zeitpunkt der Punktion noch nicht vor. Ergänzung zum Knochenmarksbefund: Ringsideroblasten waren nicht nachweisbar

Beispiel für einen Antwortbogen des Ringversuches Knochenmarkzytologie 219 von 2001:

Proben-Nummer:		BAB 312	BRB 698	FFD 182	FHH 933	NRN 854	KBB 746	SZF 986	TRC 254	ZEE 167	ZTW 910
Differential-Blutbild											
Neutrophile Segmentkernige	01										
Neutrophile Stabkernige	02										
Neutrophile Metamyelocyten	03										
Neutrophile Myelocyten	04										
Promyelocyten	05										
Myeloblasten	06										
Nicht klassifizierbare Blasen	07										
Eosinophilie	08										
Basophilie	09										
Monozyten	10										
Monozyten(unreife, atypische)	11										
Lymphozyten	12										
Lymphozyten (atypische)	13										

Plasmazellen	14										
Kernhaltige rote Vorstufen	15										
Nicht klassifizierbare Zellen	16										
Erythrozytenmorphologie											
Unauffällig	17										
Mikrozytose	18										
Makrozytose	19										
Anisozytose(verstärkt)	20										
Poikilozytose(verstärkt)	21										
Ellipozytose	22										
Sichelzellen	23										
Targetzellen	24										
Mikrosphärozyten	25										
Hypochromasie	26										
Polychromasie (vermehrt)	27										
Basophile Tüpfelung	28										
Howell-Jolly-Körperchen	29										
Geldrollenbildung	30										
Parasitenbefall	31										

Proben-Nummer:		BAB 312	BRB 698	FFD 182	FHH 933	NRN 854	KBB 746	SZF 986	TRC 254	ZEE 167	ZTW 910
Leukozytenzahl geschätzt	32										
Leukozytenmorphologie											
Unauffällig	33										
Hypersegmentierung der neutrophilen Granulocyten	34										
Auer-Stäbchen	35										
Atypische Granulation von Promylocyten	36										
Grumprecht'sche Kernschatten	37										
Pseudo-Pelger	38										
Thrombozytenzahl											
Geschätzte Anzahl	39										
Thrombozytenmorphologie											
Unauffällig	40										
Riesenthrombozyten	41										

<u>Knochenmarkzytologie →</u>											
Qualität des Präparates											
Ausreichende Bröckel	42										
Nicht ausreichende Bröckel	43										
Präparat/Färbung von ausreichender	44										
Präparat von unzureichender Färbequalität	45										
Zelldichte											
Geschätzte Zelldichte	46										
Megakaryozyten											
Geschätzte Zahl	47										
Megakaryozyten (qualitativ)											
Normale Morphologie	48										
Unreife Formen vermehrt	49										
Hypolobuliert	50										
Mikromegakaryozyten	51										
Nicht beurteilbar	52										
Verhältnis Erythropoese:Granulopoese											
Normal	53										
Verschieben zugunsten der Erythropoese	54										
Verschieben zugunsten der Granulopoese	55										
Zellen der Erythropoese											
Geschätzte Anzahl	56										
Zellen der Erythropoese (qualitativ)											
Normal	57										
Leicht megaloblastär	58										
Ausgeprägt megaloblastär	59										
Kernatypien (z.B. Kernabsprengung,	60										
Plasmazellreifungsstörung	61										
Nicht beurteilbar	62										

Proben-Nummer:		BAB 312	BRB 698	FFD 182	FHH 933	NRN 854	KBB 746	SZF 986	TRC 254	ZEE 167	ZTW 910
Zellen der neutrophilen Granulopoese											
Geschätzte Anzahl	63										

[illegible]

lymphoplasmozytoid	90										
Lymphoblastisch	91										
Lymphom vom Burkitt-Typ	92										
Atypisch	93										
Hodgkin Lymphom	94										
Sternberg'sche Riesenzellen	95										
Nicht beurteilbar	96										

Proben-Nummer:		BAB 312	BRB 698	FFD 182	FHH 933	NRN 854	KBB 746	SZF 986	TRC 254	ZEE 167	ZTW 910
Plasmazellen											
Normal	97										
Leicht vermehrt (unter 10%)	98										
Deutlich vermehrt (über 10%)	99										
Plasmazellen (qualitativ)											
Normal	100										
Leichte Atypien	101										
Ausgeprägte Atypien	102										
Unreife hämatopoetische											
Signifikante Population (über 5%)	103										
Nicht hämatopoetische											
Tumorzellen (Solider Tumor)	104										
Osteoblasten	105										
Osteoklasten	106										
Speichereisen											
Menge	107										
Nicht beurteilbar	108										
Sideroblasten											
Geschätzter Sideroblastenindex	109										
Nicht beurteilbar	110										
Diagnose (nach Diagnose-schlüssel)											
Hauptdiagnose	111										
Nebendiagnose	112										

Beurteiler:

1.Medizinisch technische Assistent/-in 2. Arzt (ohne Facharztbezeichnung) 3. Internist 4.Internist (Teilgebietsbezeichnung Hämatologie) 5. Pathologe 6.Laborarzt	Kommentar: Unterschrift: Datum:
--	---

Beispiel für einen Auswertungsbogen Ringversuch 219 von 2001:

Präparat	Beurteilung	Schwierigkeit	Maximale Punktzahl	Erreichte Punktzahl
BAB 312	Richtig	2	8	8
BRB698	Richtig	2	8	8
FFD182	Richtig	3	12	12
FHH933	Richtig	2	8	8
NRN854	(Richtig)	2	8	4
KBB746	Richtig	2	8	8
SZF986	Falsch	2	8	-15
TRC254	Richtig	2	8	8
ZEE167	Richtig	1	4	4
ZTW910	Richtig	3	12	12
Erreichte Punktzahl			84	57

Von 84 möglichen Punkten erreichte der Teilnehmer 57 Punkte.

6.4 PubMed Recherche

Tabelle 38: PubMed-Tabelle Recherche von 22.10.14 bis 05.01.15

Bei der Sichtung von Publikationen zum Thema Qualitätssicherung in der hämatologischen Zytomorphologie in PubMed über den Zeitraum, ergibt sich folgendes Bild.

Suchbegriff	Zahl der Abstracts	Zahl der Abstracts zum Thema	Veröffentlichung	Datum der Sichtung
Quality in haematologic diagnosis	2791	29	01.01.1960 bis 2014	03.11.14
Quality of cytology	1475	7	01.01.1960 bis	03.11.14

in bone marrow			2014	
Quality of bone marrow evaluation	810	7	01.01.1960 bis 2014	03.11.14
Quality of cytology in blood smear	78	11	01.01.1960 bis 2014	03.11.14
Quality of MDS diagnostic	214	6	01.01.1960 bis 2014	03.11.14
Quality of diagnostic in AML	342	4	01.01.1960 bis 2014	31.10.14
Quality of diagnostic in anemia	2344	16	01.01.1960 bis 2014	03.11.14
Quality of diagnostic in lymphoma	1670	9	01.01.1960 bis 2014	03.11.14
Future of cytomorphology	17	2	Die letzten 10 Jahre	22.10.14
New diagnostic in hematology	2582	7	08.09.08 bis 30.12.14	30.12.14
Problems in hematologic diagnosis	19	0	01.01.1960 bis 2014	27.02.15
Quality in blood smear examination	41	4	01.01.1960 bis 2014	22.10.14
Quality in bone marrow examination	165	19	01.01.1960 bis 2014	04.11.14
Errors in hematological cytomorphology	0	0	01.01.1960 - 2014	25.10.14
Future of light microscopy	838	0	2005 - 27.02.15	21.10.14
Quality control of bone marrow	551	4	01.01.1960 - 2014	27.02.15
Quality control of blood smears	51	2	2005 - 27.02.15	27.02.15
Quality of flow cytometry	1707	86	01.01.2000 - 2014	03.11.14

6.5 Hämatologische Klassifikationen:

Tabelle 39: FAB-Klassifizierung der akuten myeloischen Leukämie

FAB-Typ	Granulo-zytopoese [%]	Mono-zytopoese [%]	Erythro-poese [%]	Bezeichnung	Immun-marker	Zyto-genetik
M0	<10, POX < 3	< 20	< 50	AML mit mini.	Lymphat.	-

				Differenzierung	negativ Myelo.+	
M1	<10, POX>3	<20	<50	AML ohne Aus- reifung		-
M2	>10	<20	<50	AML mit Aus- reifung		t(8;21)
M3	Hypergranulär Auer- Stäbchen	<20	<50	Akute Promylo- zyten- Leukämie (APL)	HLA-DR neg.	t(15;17)
M3v	Mikrogranulär Monozytoide Kerne	<20	<50	APL, mikrogranuläre Form	HLA-DR neg.	t(15;17)
M4	>20	>20	<50	Akute myelomono- zytäre Leukämie		-
M4 Eo	Abnorme Eosinophile			Akute myelomono- zytäre Leukämie mit Eosinophilie		inv (16)
M5a	<20	>80 unreif	<50	Akute Monoblasten- Leukämie		-
M5b	<20	>80 reif	<50	Akute Monozyten- Leukämie		-
M6	>30 der NEC sind Blasten variabel	Varia bel	>50	Akute Erytholeukämie		-
M7	>30 Megakaryo- blasten	variab el	<50	Akute Megakaryo- blasten- Leukämie	CD41/ CD61 positiv	-

Tabelle 40: IPSS-R-Score

Score	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Cytogenetic risk group	very good	-	Good	-	Intermediate	Poor	Very Poor
Bone marrow blasts	<2 %	-	3-4 %	-	5-9 %	>10 %	-
Haemoglobin g/dl	> 10	-	8-< 10	<8	-	-	-
Thrombozyten/ μ L	>100	50 –<100	<50	-	-	-	-
Granulocyten/ μ L	> 800	< 800	-	-	-	-	-

Zytogenetische Risikogruppe:

Very good	Del (11q), -Y
Good	Normal, del (20q), del (5q), single and double. del (12p)
Intermediate	+8, del (7q), i(17q), + 19, + 21, any other single or double abnormality, independent clones
Poor	-7, inv (3)/t(3q)/del(3q), 2 abnormalities including -7/del (7q), complex:3 abnormalities
Very poor	Complex: > 3 abnormalities

Prognostische Risikogruppen:

	Punkte: IPSS-R	Medianes Überl.	AML 25% *
Very good	<1,5	8,8 Jahre	Nicht erreicht
Good	>1,5- 3	5,3 Jahre	10,8 Jahre
Intermediate	>3-4,5	3 Jahre	3,2 Jahre
Poor	>4,5-6	1,6 Jahre	1,4 Jahre
Very poor	<6	0,8 Jahre	0,73 Jahre

* Zeit bis 25% der Patienten eine Leukämie entwickeln

7. Zusammenfassung:

Auswertung von Ringversuchen zur zytologischen Knochenmark-Diagnostik der Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V. (INSTAND)

Einleitung: Die zytomorphologische Untersuchung von hämatologischen Erkrankungen ist ein bedeutsames diagnostisches Werkzeug. Die Qualität der Diagnostik ist Schwerpunkt des Ringversuches. Insgesamt wurden 1772 Einzelpräparate erstellt und bewertet. Die Bewertungen erfolgten abhängig von der Art des Fehlers und dem Schweregrad der Erkrankung. Alltägliche Erfordernisse an die Zytomorphologie und realistische, klinische Bewertungsmaßstäbe an Diagnose und die Bedeutung für den Patienten flossen in die Beurteilung ein. Unter Berücksichtigung der WHO-Klassifikationen und der gesetzlichen Rahmenbedingungen für Qualitätssicherung wurden die Ergebnisse diskutiert.

Methoden: Die Auswahl und Bewertung der Präparate erfolgte zunächst durch einen Referenzzytomorphologen. Unter Zuhilfenahme eines Fragebogen und weniger Zusatzangaben, sollte die Teilnehmer eine zytomorphologische Diagnose erstellen. Die Teilnehmer erhielten abschließend Ergebnis und Fehleranalyse zum Teil durch Videoprints der Präparate erläutert. Die Fehleranalyse war auf die Labore beschränkt, die über 70% der Gesamtpunktzahl erreicht haben.

Ergebnisse: Die Diagnosen und Fehlerquoten verteilen sich über 4 Schweregrade mit einer Spannbreite zwischen 0,0 % bis 35,1 %. Ungewöhnlich hoch sind die Quoten bei Nomalbefunden (16,1 %) und myeloproliferative Neoplasien (10,0 %), letztere trotz eindeutigen Laborvorgaben wie z.B. einer deutlichen Thrombozytose über längere Zeit. Falsche Diagnosen finden sich bei der hämolytischen Anämie in 13,9 % und bei der megaloblastären Anämie in 15,1 %, wobei in diese in den meisten Fällen mit einer Myelodysplasie verwechselt worden sind. Bei den Fällen von Myelodysplasien findet sich insgesamt eine Fehlerrate von 23,5 %. Die Fehlerrate bei den MDS-Subtypen liegt bei RARS (11,5 %), RAEB (35,1 %) und 5q-Minus-Syndrom (34,6 %). Bei der akuten Leukämie reicht die Fehlerrate bis 5,6 %. Der Remissionsstatus der AML (7,9 %) und der akuten lymphatischen Leukämie (10,6 %) stellt eine Herausforderung dar, vor allem bei der AML M4 E0. In diesem speziellen Fall haben nur 17,2 % der Teilnehmer ein frühes Rezidiv diagnostiziert.

Von einem anderen Blickwinkel aus betrachtet sind Diagnosen, wenn sie von den Teilnehmer gestellt wurden, wie MDS vom Typ RAEB, in 87,9 % der Fälle richtig. Bei reaktiven Veränderungen liegt die Quote der richtigen Diagnose aber nur bei 10,6 %.

Ausblick: Neben weitreichenden Fortbildungsangeboten sollte ein Expertenpanel, wie in den laufenden Studien z.B. der CLL- oder AML-Studiengruppe, zur Erstellung einer Referenzdiagnose zur Verfügung stehen. Moderne digitale Medien können helfen die notwendigen Arbeitsabläufe zu vereinfachen.

8. Summary:

Interlaboratory comparison („round robin“) of diagnostic quality in haematological cytomorphology from the society for the Advancement for quality assurance in medical laboratories (INSTAND-Düsseldorf)

Introduction: The cytomorphology of haematological diseases is an important diagnostic tool. The focus of this interlaboratory comparison („round robin“ test) is diagnostic quality. 1772 single bone marrow specimens were evaluated. Results were categorized according to the nature of the mistake and the severity of the disease. When evaluating the results, everyday demands in the field of cytomorphology were taken into account, as well as realistic clinical valuation standards in diagnosis. These results were discussed while taking into consideration the WHO-classification and the legal framework in the area of quality assurance.

Methods: The selection and evaluation of the specimens was conducted by a cytologist from a reference laboratory. The participants were to submit a cytomorphological diagnosis with the help of a questionnaire and little additional information. In conclusion, the participants received a detailed error analysis and explanatory video prints of the specimens. This analysis was restricted to laboratories achieving more than 70% of the total score.

Results: The error rates were spread over a severity scale of 4 levels (range between 0,0 to 35,1 %). Error rates were high for non-pathological specimens (16,1 %) and myeloproliferative neoplasias (10,0 %), the latter despite straightforward clinical information such as a thrombocytosis over an extended period of time. False diagnoses in hemolytic anemia were 13,9 %, in megaloblastic anemia 15,1 % within which most cases were confounded with myelodysplasia. Myelodysplastic cases showed error rates up to 23,5 %. MDS-subtypes error rates were RARS (11,5 %), RAEB (35,1 %) and 5q-minus-syndrome (34,6 %). In acute myeloid leukemia errors appeared in 5,6 %. The Remission status in acute myeloid leukemia (7,9 %) and acute lymphoblastic leukemia (10,6 %) is a challenge, especially in AML M4Eo. In this particular case only 17,2 % of the participants diagnosed an early relapse.

From a different point of view when participants finally diagnosed a case, such as MDS type RAEB, results were correct in 87,9 % of cases. In contrast, in the case of reactive changes the result was correct in only 10.6 %.

Conclusion: In addition to offering extensive training and continued education programs, a panel of experts, such as in the ongoing study group trials should be available to determine reference diagnoses. Modern digital media can simplify the necessary work routines.

9. Verzeichnis der akademischen Lehrer:

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren bzw. Privat-Dozenten

Universität Bonn:

Biersack, Bode, von Büssow, Grote, Hanses, Hansis Hirner, Hartmann, Jerusalem, Lüderitz, Sauerbruch, Schmidt-Wolf, Wulfhekel, Wartenberg,

Kreiskrankenhaus Waldbröl:

Bischoff, Bauer, Labedzky

St. Marienkrankenhaus Siegen:

Gassmann, Fritz, Korz, Schuster

10. Danksagungen:

Ich danke, Herrn Professor Dr. med. W. Gassmann, für die Überlassung des Themas, viele Ideen und Geduld bei Korrektur und Erarbeitung des Themas meiner Doktorarbeit, aber auch für die vielen Jahre der Zusammenarbeit.

Herzlichen Dank der Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V. (Instand) für das zur Verfügung stellen der Daten der Ringversuche und ganz besonderen Dank der Stellvertretenden Vorsitzenden der Frau Dr. med. Silke Heller für das Lesen der Promotion und Unterstützung zum Gelingen der Promotion.

Meinem Bruder Stefan für manch lange Stunden des Formatierens und Datensortierens im Dschungel meiner fast „perfekten Vorgaben“.

Dank auch an die vielen Kollegen und Mitarbeiter für ihre Unterstützung, insbesondere Hans-Jürgen Bias, Ahmaed Gharevi, Matthias Scheer, Renée und Martin Stötzel.

Die statistische Beratung erfolgte durch Frau Dr.rer.nat. Maritta Kirchner Institut für Medizinische Biometrie (IBI) der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg.

Gefreut habe ich mich auch über die Tipps und Hilfe durch Hr. Prof.Dr.rer.nat. Claus Gruben und Frau M.Sc.Rebecca Klein für die Zeit und Arbeit an den Histogrammen und weiteren Anregungen.

Ganz besonders meiner Ehefrau Vera und unseren Kindern Hanna, Jan-Niklas und Tim für Geduld und Rücksichtnahme, während vieler „gemeinsamer“ Wochenenden und Ferientage

11. Tabellarischer Lebenslauf:

Markus Oliver Peter Rotermund

Hohgartenstr. 45

57072 Siegen

Geboren: 17.07.1968 in Sittard/ Niederlande

1979-1980: Beethoven-Gymnasium-Bonn

1980-1988: Internat des Bodelschwingh-Gymnasium Herchen/ Sieg

1988: Abitur

1988-90: Wehrdienst: Sanitäter in Marburg, Adenau/ Eifel bei den Heeresfliegern

1990-1997: Studium der Humanmedizin an der Universität Bonn

1997-1998: AIP am Kreiskrankenhaus Waldbröl

1999: Approbation

1999 – 2000: Assistenzarzt an den Kliniken Köln

2001-2005: Assistenzarzt mit Weiterbildung zum Facharzt für Innere Medizin
St. Marienkrankenhaus Siegen

2005: Facharzt für Innere Medizin

2005-2007: Oberarzt für Hämato-Onkologie in dem Kreiskrankenhaus Waldbröl

2006: Zusatzbezeichnung für Hämato-Onkologie/ Düsseldorf

2007- 2008: Facharztsitz für Hämato-Onkologie in Siegen in eigener Praxis

2009: Zusatzbezeichnung für Palliativmedizin/ Münster

2008/2009: Anschluß an das MVZ des St. Marienkrankenhauses Siegen

2009-2014: mit halben Sitz in einer MVZ-Praxis für Hämato-/Onkologie und 50%
Oberarzt in der Klinik für Hämato-Onkologie des St. Marienkrankenhauses Siegen (Leiter Prof. Dr. med. Winfried Gassmann)

2014: Leiter des MVZ